



**AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO DE METAIS EM
SEDIMENTOS DA BAÍA DE GUANABARA (RJ), ATRAVÉS
DE UM MÉTODO ESCALONADO BASEADO EM MÚLTIPLAS
LINHAS DE EVIDÊNCIAS.**

Aluno: Bruno Galvão de Campos

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

Janeiro 2017
São Vicente - SP

BRUNO GALVÃO DE CAMPOS

**AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO DE METAIS EM
SEDIMENTOS DA BAÍA DE GUANABARA (RJ), ATRAVÉS
DE UM MÉTODO ESCALONADO BASEADO EM MÚLTIPLAS
LINHAS DE EVIDÊNCIAS.**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita filho" Campus do
Litoral Paulista para obtenção do
título de Mestre em biodiversidade
aquática pelo Programa de Pós-
Graduação em Biodiversidade
Aquática.

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

SÃO VICENTE, 2017

BRUNO GALVÃO DE CAMPOS

**AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO DE METAIS EM
SEDIMENTOS DA BAÍA DE GUANABARA (RJ), ATRAVÉS
DE UM MÉTODO ESCALONADO BASEADO EM MÚLTIPLAS
LINHAS DE EVIDÊNCIAS.**

Presidente da Banca: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rafael Mendonça Duarte

Dr. Bauer R. F. Rachid

Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

APROVADO EM 06/ 01 / 2017

574.5222 Campos, Bruno Galvão de
C157 Avaliação do risco ecológico de metais em sedimentos da Baía de Guanabara (RJ), através de um método escalonado baseado em múltiplas linhas de evidências. / Bruno Galvão de Campos. - São Vicente, 2017.
73 p.: il, figs., gráfs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Campus do Litoral Paulista - Instituto de Biociências.
Orientador: Denis Moledo de Souza Abessa

1. Poluição ambiental. 2. Ecotoxicologia aquática. 3. Sedimentologia marinha. 4. Metais. 5. Contaminação. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UNESP
Campus do Litoral Paulista

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus amados pais, que me deram o exemplo de amor, honestidade e trabalho, sei que nada sou sem vocês.

Ao meu irmão, meus queridos tios e tias pelo apoio, incentivo e por todo o amor e carinho.

Ao meus avós por terem feito parte da minha vida, mesmo que por pouco tempo, por todo amor e proteção que me deram. A minha namorada por todo o amor, carinho, e incentivo.

Ao Prof. Jonatas, por ter me incentivando a escolher a vida acadêmica e de pesquisador.

A todos que, como eu, se dedicam à ciência e acreditam que ela é capaz de fornecer ferramentas para a construção de uma sociedade que valorize o meio ambiente e lute pela convivência pacífica e harmoniosa de todos os seres que habitam a Terra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os que de alguma forma colaboraram com este trabalho, aos colegas, professores e funcionários da UNESP CLP, e em especial:

Ao professor Dr. Denis Moledo de Souza Abessa pela orientação, apoio, confiança e participação competente na elaboração deste estudo.

Ao professor Dr. Willson Thadeu Machado, pela colaboração na parte geoquímica e por todo o apoio dado ao trabalho.

Aos professores Dr. Camilo Dias Seabra Pereira e Dr. Rafael M. Duarte pelas importantes sugestões, esclarecimentos e observações que foram dadas durante minha qualificação.

A Dra. Paloma Gusso Choueri, Dr. Lucas Buruaem, Dra Isabella Leal Bordon, Dra. Luciane Maranhão e Dr. Rodrigo Choueri Brasil, pelas importantes sugestões, e por estarem sempre disponíveis e serem sempre atenciosos.

A todos os colegas e amigos do NEPEA, minha segunda família, por toda ajuda e parceria

A MSc Mayana Karoline Fontes, minha amada namorada, por todo o apoio, em todas as fases deste trabalho, por sempre me animar, incentivar e me ajudar quando precisei.

Aos meus pais e irmão que sempre me apoiaram e fizeram de tudo para que eu realizasse meus sonhos.

A minha prima Flavia que me acolheu e sempre me ajudou quando precisei

A FAPESP (Processo: 2015/13143-0) pela bolsa de mestrado e fomento.

"SOMEWHERE, SOMETHING INCREDIBLE IS WAITING TO BE KNOWN"

Carl Sagan

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
RESUMO DO TRABALHO DESENVOLVIDO	1
1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS.....	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Metodologia Escalonada (<i>Tiered Approach</i>)	10
3.2 Área de estudo	11
3.3 Coleta e armazenamento das amostras.....	13
3.4 Caracterização da Exposição	15
3.4.1 Sedimentologia.....	15
3.4.2 Análises Químicas (Extração Forte).....	16
3.4.3 Guias de qualidade de sedimento (SQG)	16
3.4.4 Fator de Enriquecimento (FE)	17
3.4.5 Índice de Geoacumulação (Igeo).....	17
3.4.6 Índice Geoquímico.....	18
3.5 Caracterização do Efeito (Testes de Toxicidade).....	19
3.5.1 Parâmetros Físico-químicos	19
3.5.2 Testes de Toxicidade Aguda	19
3.5.3 Testes de Toxicidade Crônica.....	23
3.6 Confirmação da relação exposição/efeito - TIE com sedimento total	24
3.6.1 Teste de sobrevivência ao ar - <i>A. brasiliiana</i>	26
3.7 Análise dos Resultados	26
3.8 Integração dos Dados	27
4 RESULTADOS	29
4.1 Caracterização da Exposição	29
4.1.1 Sedimentologia.....	29

4.1.2	Análises Químicas.....	29
4.1.3	Guias de Qualidade de Sedimento (SQG)	30
4.1.4	Fator de Enriquecimento (FE) dos metais traço na Baía de Guanabara	32
4.1.5	Índice de Geoacumulação (Igeo).....	33
4.1.6	Índice Geoquímico (HighQ).	34
4.2	Caracterização do Efeito.....	35
4.2.1	Toxicidade	35
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO	61
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	62

LISTA DE ABREVIATÖES

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANOVA - Análise de Variância

CI₅₀ - Concentração letal em 50% dos organismos

GL- Graus de Liberdade

DNA - Ácido desoxirribonucleico

ERA – Do Inglês, *Environmental Risk assessment* (Avaliação de Risco Ambiental)

HPA- Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

POP - Poluentes Orgânicos Persistentes

LT₅₀- Tempo Letal em 50% dos organismos

MO - Matéria Orgânica

MS - Média dos Quadrados

HighQ - Índice Geoquímico

OD - Oxigênio Dissolvido

RJ - Rio de Janeiro

SAL - Salinidade

SS - Soma dos Quadrados

TEMP - Temperatura

TIE - Avaliação e Identificação da Toxicidade

USEPA - United States Environmental Protection Agency

LOE - Linhas de evidência

ISQG - Do inglês, *interim sediment quality guidelines*

PEL - Do inglês, *probable effect levels*

FE - Fator de enriquecimento

R - Fator de enriquecimento total

Igeo - Índice de geoacumulação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: comparação na literatura da concentração de metais na Baía de Guanabara, com os valores máximos e mínimos indicados em ppm.	13
Tabela 2: Classificação do nível de Poluição a partir dos valores de Igeo calculados.	18
Tabela 3: Classificação o nível de contaminação segundo os valores de HighQ, obtido através do calculo do índice geoquímico.	18
Tabela 4: Granulometria e teores de matéria orgânica e carbonato de cálcio dos sedimentos coletados na Baía de Guanabara e Controle.	29
Tabela 5: Concentrações médias dos metais, em ppm, nos sedimentos dos pontos P1 ao P5 da Baía de Guanabara, e os guias da qualidade de sedimento (em ppm) propostos pela Enviroment Canada (CCME, 2002), e por Choueri <i>et al.</i> , (2009), bem como os valores de <i>Background</i> de cada metal para a região (Monteiro <i>et al.</i> , 2012).....	30
Tabela 6: Fator de enriquecimento (FE) e Fator de enriquecimento total (R).	33
Tabela 7: Valores dos Índices de geoacumulações (Igeo) obtidos para Baía de Guanabara.....	34
Tabela 8: Valores de HighQ, obtidos através do cálculo do Índice Geoquímico.	35
Tabela 9: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com Anfípodo.	35
Tabela 10: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com Tanaidáceo.....	36
Tabela 11: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com <i>Anomalocardia brasiliiana</i>	37
Tabela 12: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com <i>Nitocra sp.</i>	39
Tabela 13: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento de <i>Ulva lactuca</i>	41
Tabela 14: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com <i>Ulva lactuca</i>	41
Tabela 15: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento da Reagente de Fenton.....	42
Tabela 16: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com a reagente de Fenton.	43
Tabela 17: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento de Palha de Coco.....	44
Tabela 18: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com Carvão de casca de coco.....	45

Tabela 19: Resultado da análise de componentes principais para dados geoquímicos e toxicidade. As variáveis com cargas $\geq \pm 0,45$ foram destacadas em vermelho.	46
Tabela 20: Tabela de decisão com integração qualitativa dos resultados de toxicidade multiespécies, representados pela "Classificação da toxicidade" e fator de enriquecimento total (R) e índice geoquímico (HighQ).	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Configuração da Avaliação de Risco Ecológico de sedimentos devido a metais proposto no presente trabalho, para os sedimentos da região da Baía de Guanabara, baseado em diferentes linhas de evidência (LOE), organizadas de modo escalonado.	11
Figura 2: Representação da área de estudo na Baía de Guanabara. Os locais assinalados pelos números de 1 a 5 representam os pontos de coleta (P1 a P5 respectivamente). Sendo P1- Porto do Rio de Janeiro; P2- Porto de Niterói; P3- Foz do rio Iguaçu; P4- Foz do rio Meriti; P5- APA de Guapimirim.	14
Figura 3: Exposição dos bivalves ao sedimento da Baía de Guanabara para teste de toxicidade aguda.....	22
Figura 4: Esquema da fase I do teste de TIE realizado no presente trabalho. Sedimento tóxico é submetido a três tratamentos distintos, visando remover contaminantes orgânicos, metais e amônia respectivamente. Após estes tratamentos os sedimentos são testados quanto à toxicidade em paralelo com seus respectivos <i>Baselines</i> . A comparação da toxicidade do Baseline com a do sedimento tratado fornece informações sobre a possibilidade do grupo químico em questão ser o causador da toxicidade.	24
Figura 5: Classificação da Matriz de integração dos bioensaios. A classificação individual representa a primeira etapa, descrita no tópico 3.7 enquanto a classificação combinada representa as etapas 2 e 3. Dentro da classificação combinada existem 4 níveis de toxicidade: Muito tóxico, Tóxico, Potencialmente tóxico e Não Tóxico.	28
Figura 6: Comparação das concentrações dos metais, Zn, Cu, Pb e Cr encontrados com os valores de qualidade de sedimento (ISQG/PEL) propostos pela agência ambiental canadense (CCM, 2002).....	31
Figura 7: Comparação das concentrações de Zn, Cu, Pb, Ni e Cr encontrados no presente estudo com os valores de SQG propostos por Choueri et al. (2009).	32
Figura 8: Fator de enriquecimento (FE) (eixo da esquerda) e Fator de enriquecimento total (R) (eixo da direita) para os metais, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, para a região da Baía de Guanabara. Valores de FE superiores a 1 indicam contaminação de origem antrópica.	33
Figura 9: Igeo para os metais, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, encontrados na região da Baía de Guanabara.....	34
Figura 10: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo <i>Tiburonella viscana</i> . * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.	36

Figura 11: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo <i>Kalliapseudes schubartii</i> . * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.	37
Figura 12: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo <i>Anomalocardia brasiliiana</i> . * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.	38
Figura 13: Resultado do teste de taxa de enterramento com o organismo <i>Anomalocardia brasiliiana</i> . * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.	39
Figura 14: Resultado do teste de toxicidade crônica realizado com o organismo <i>Nitocra</i> sp. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.	40
Figura 15: Resultado do teste de sobrevivência ao ar com o bivalve <i>Anomalocardia brasiliiana</i>	40
Figura 16: Resultado do teste de TIE com sedimento integral indicando taxa de fecundidade média do organismo <i>Nitocra</i> sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos <i>Baseline</i> e <i>Ulva lactuca</i>	42
Figura 17: Resultado do teste de TIE com sedimento integral indicando taxa de fecundidade média do organismo <i>Nitocra</i> sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos <i>Baseline</i> e Reagente de Fenton.	43
Figura 18: Resultado do teste de TIE com sedimento diluído (50%) indicando taxa de fecundidade média do organismo <i>Nitocra</i> sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos <i>Baseline</i> e Carvão de casca de coco. Note que em P1, P3, P4 e P5 houve diferença estatística indicando que contaminantes orgânicos interferem na toxicidade.	45
Figura 19: Escores dos eixos obtidos para cada ponto.	46
Figura 20: Comparação entre o sedimento controle (esquerda) e o sedimento do P3 (direita).	48
Figura 21: Matriz integrando os testes de toxicidade aguda (<i>T. viscana</i> , <i>A. brasiliiana</i> e <i>K. schubartii</i>) e crônica (<i>Nitocra</i> sp.). Resultando na Classificação da toxicidade, uma única resposta qualitativa dos testes de toxicidade. "TA - combinação" se refere à combinação dos testes de toxicidade aguda. "TC - combinação" se refere à combinação dos testes de toxicidade crônica <i>A. brasiliiana</i> * refere ao teste de enterramento . O critério de classificação pode ser encontrado na figura 05.	53
Figura 22: Concentração de amônia não ionizada média, medida durante os bioensaios.	55

RESUMO DO TRABALHO DESENVOLVIDO

A Baía de Guanabara concentra aproximadamente 70% das indústrias do Estado do Rio de Janeiro. Os resíduos produzidos por essas fontes, somados à carga de esgoto doméstico, transformaram a região em umas das áreas mais poluídas da costa Brasileira. O presente estudo realizou a avaliação do risco ecológico dos metais em sedimentos da Baía de Guanabara, por meio de um método escalonado utilizando múltiplas linhas de evidência: caracterização do sedimento quanto à sedimentologia e concentração de metais, comparação das concentrações ambientais com guias de qualidade de sedimento, ensaios de toxicidade crônica utilizando os organismos *Anomalocardia brasiliiana* e *Nitocra sp.*, ensaios de toxicidade aguda utilizando os organismos *Tiburonella viscana*, *Kalliapseudes schubartii*, e *Anomalocardia brasiliiana*. Para comprovar existência de relação causa e efeito entre os metais e a toxicidade, foram empregadas a técnica do TIE, análises multivariadas (PCA) e matrizes qualitativas. Os sedimentos mostraram níveis altos a moderados de metais (Zn, Pb, Cu, Cr) associados com a toxicidade. O TIE revelou que, além dos metais, amônia e compostos orgânicos são contaminantes presentes na região que tem a capacidade de causar toxicidade. Desse modo constatou-se que os metais constituem uma importante classe de contaminantes para a Baía de Guanabara, os quais, além de estarem presentes em altas concentrações, interagem com outros contaminantes e são também (co)responsáveis por efeitos biológicos negativos.

Palavras chave: TIE, ERA, toxicidade, Rio de Janeiro, contaminação, poluição.

ABSTRACT

The Guanabara Bay (GB) comprises approximately 70% of the industries of Rio de Janeiro State. The wastes produced by these sources, combined with the domestic sewage loads, have transformed the region into one of the most polluted areas of the Brazilian coast. The present study evaluated the ecological risk of metals in sediments from the GB by the use of a tiered approach. The chosen method combines the following lines of evidence: geochemistry, comparison of environmental concentrations of metals with sediment quality guidelines, chronic sediment toxicity tests with *Anomalocardia brasiliiana* and *Nitocra sp.*; and acute sediment toxicity tests with *Tiburonella viscana*, *Kalliapseudes schubartii*, and *Anomalocardia brasiliiana*. To verify the existence of cause and effect relationships between metals and toxicity, the *Toxicity Identification Evaluation* (TIE) technique, multivariate analysis (PCA) and qualitative matrices were used. Sediments showed high to moderate levels of metals (Zn, Pb, Cu, Cr) associated with toxicity. In addition, the TIE has revealed that metals, ammonia and organic compounds contribute to cause sediment toxicity. We concluded that metals are an important class of contaminants for the GB, together with other chemicals, as they are present in high concentrations, interact with other substances and are (co)responsible for the negative biological effects.

Key-words: TIE, ERA, toxicity, Rio de Janeiro, contamination, pollution.

1 INTRODUÇÃO

Os ambientes costeiros estão entre as regiões de maior biodiversidade dos oceanos e abrigam a maior parte dos recursos vivos marinhos do mundo, principalmente em alguns ecossistemas específicos, como manguezais, costões rochosos e recifes de corais (CLARK *et al.*, 1998). Por esses e outros motivos, a zona costeira brasileira é considerada patrimônio nacional, devido a sua relevância ambiental, econômica e social (BRASIL, 1988).

Dentre as regiões costeiras, os estuários são ambientes complexos, dinâmicos e únicos devido à forte influência que sofrem das marés e pela grande variação de salinidade, visto que são consideradas zonas de transição entre os ambientes de água doce e de água salgada. Nesses ambientes a salinidade pode variar de 0 até mais de 35 devido às descargas fluviais, amplitude de maré e evaporação (CLARK *et al.*, 1998; CHAPMAN & WANG, 2001). Em geral, os estuários são biologicamente mais produtivos que os oceanos e rios, e sua circulação e hidrodinâmica potencializam a retenção de matéria orgânica, nutrientes e algas, tanto no sedimento quanto na coluna d'água. Assim, ambientes estuarinos constituem zonas de alimentação, proteção e reprodução para um grande número de espécies, tanto marinhas quanto dulcícolas (CHAPMAN & WANG, 2001; MIRANDA *et al.*, 2002; McLUSKY & ELLIOTT, 2004).

Apesar de sua notável importância, as regiões estuarinas, principalmente aquelas próximas a centros urbanos, estão incluídas entre os ecossistemas mais degradados e/ou ameaçados pela ação humana. Isto pode ser visto na Baía de Guanabara, um estuário com 91 rios e canais, rodeados pela Região Metropolitana do Rio de Janeiro, que abarca os municípios do Rio de Janeiro, Duque de Caxias, São Gonçalo, Niterói e outras cidades menores. A baía recebe uma quantidade considerável de contaminantes oriundos de efluentes industriais, domésticos e da agricultura, além da contaminação proveniente das atividades portuárias, de modo que esta tem sido considerada uma das áreas mais poluídas da costa brasileira (NETO *et al.*, 2005; 2006).

Como resultado dessa ocupação, diferentes classes de poluentes podem ser encontradas na Baía de Guanabara, e entre elas destacam-se os metais (NETO *et al.*, 2005; MACHADO, *et al.*, 2002). Tais contaminantes não são degradáveis e podem ser remobilizados e reciclados rapidamente dentro dos ciclos biogeoquímicos

e, assim, permanecer no ambiente por longos períodos, que podem alcançar várias décadas. Quando se encontram em ambientes aquáticos, acabam geralmente depositados do sedimento, sendo que as concentrações nesses compartimentos podem exceder em ordens de magnitude as respectivas concentrações na coluna d'água (TAM & WONG, 2000; SUTHERLAND, 2000).

A fração biodisponível dos metais no contexto geoquímico corresponde à fração móvel (não complexada) destes elementos; já no contexto biológico, corresponde à fração disponível para os organismos, que podem ou não condizer com as frações móveis de um dado composto (TESSIER & CAMPBELL, 1987), e estão intimamente relacionadas com os padrões de alimentação e fisiologia de um organismo. Já a concentração de metais no sedimento está diretamente relacionada com o tamanho do grão, ou seja, quanto menor a partícula de sedimento maior a capacidade de adsorção de metais, em virtude da maior área de superfície de contato. A biodisponibilidade é controlada principalmente pelo pH e potencial redox, e varia com a concentração de Fe, Mn, matéria orgânica e sulfetos, devido à sua afinidade com esses elementos, os quais possibilitam a formação de complexos de óxidos e hidróxido, consequentemente reduzindo sua biodisponibilidade (CHAKRABORTY *et al.*, 2015).

Os metais são absorvidos através da membrana celular, processo que pode envolver uma variedade de mecanismos, destacando-se as proteínas que regulam a entrada de metais essenciais, que podem não ser tão seletivas (BALLATORI, 2002). Como exemplo, temos a proteína de membrana DCT1, uma proteína altamente conservativa, sendo encontrada desde fungos até seres humanos (ZHOU & GITSCHIER, 1997). Segundo Zhou & Gitschier (1997), tal proteína é responsável pelo principal mecanismo de absorção de Fe^{2+} , sendo ainda extremamente eficiente no transporte de outros cátions divalentes (Zn, Mn, Cd, Cu, Ni e Pb).

Além deste mecanismo, alguns metais ainda têm a capacidade de atravessar a membrana plasmática na forma de complexos que mimetizam moléculas endógenas. Tanto o fosfato quando o sulfato podem ser mimetizados por complexos metálicos/metais tais como arsenato, vanadato, cromato, selenato e o molibdato. Um terceiro mecanismo que merece ser mencionado é a entrada de alguns metais, tais como Cd^{+2} e Pb^{2+} por canais iônicos, presentes na membrana de órgãos como intestino, pele, brânquias, etc (CLARKSON, 1993).

Uma vez no organismo, os metais induzem a uma variedade de respostas podendo ser destacadas: interações diretas com os ácidos desoxirribonucleicos (DNA), como é o caso do Cr, que ao se ligar com o material genético forma o Cr-DNA danificando o material genético. Outros metais como níquel (Ni) e cádmio (Cd) podem danificar o DNA através da inativação de enzimas de reparação (PERMENTER *et al.*, 2011); porém o mais conhecido grupo de enzimas afetadas envolve aquelas que integram o sistema antioxidante, e que são ativadas como resposta ao estresse oxidativo gerado pela exposição aos metais e outros xenobióticos; como exemplo podemos citar a superóxido dismutase, a catalase, as peroxidases e principalmente a glutathione, devido a presença de grupamentos tióis (-SH) em sua estrutura (CHANDRAN *et al.*, 2005, DAZY *et al.*, 2009). Ainda, alguns metais podem gerar e/ou se ligar a radicais livres tornando-os mais reativos, o que pode levar a danos nas membranas celulares e alterações no material genético (ALMEIDA *et al.*, 2004).

Segundo Ercal *et al.*, (2001), grande parte dos metais considerados tóxicos, tais como Pb, Mg, Cd, é capaz de realizar ligações covalentes através de seus elétrons livres. Tais ligações normalmente ocorrem com os grupamentos tióis de macromoléculas. Dentre estas moléculas destaca-se a Glutathione na forma reduzida (GSH), um tripeptídeo composto pelos aminoácidos ácido glutâmico, cisteína e glicina, sendo o grupo tiol da cisteína o sítio ativo para as atividades antioxidantes da molécula. A interação da GSH com metais está diretamente relacionada com as respostas tóxicas dos metais em organismos, visto que causa a inativação desta molécula e de outras moléculas antioxidantes que também possuam grupamentos sulfeto como sítio ativo (LAVRADAS *et al.*, 2016).

Com o sistema antioxidante debilitado, o organismo se torna susceptível à ação das espécies reativas de oxigênio (ERO). Devido à presença de um elétron livre e desemparelhado na última camada de valências, as ERO são altamente reativas e oxidantes, podendo danificar biomoléculas como lipídios, proteínas e DNA (DI GIULIO & MEYER, 2008; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

Tais efeitos são evidenciados principalmente quando existe uma exposição crônica. Uma vez que as células sofrem estresse oxidativo, ocorre um aumento da síntese de enzimas antioxidantes. Se essa condição de estresse continuar (cenário típico de uma exposição crônica) a síntese destas enzimas não consegue suprir sua

demanda de modo eficiente, ocorrendo assim a inativação deste mecanismo de defesa (SHAIKH *et al.*, 1999).

Além da elevada toxicidade os metais apresentam alta capacidade de bioacumular ao longo das cadeias tróficas (KEHRIG *et al.*, 2011), como é o caso do mercúrio, que em sua forma orgânica, metilmercúrio (MeHg), é bioacumulado em até um milhão de vezes ao longo da cadeia trófica aquática, desde sua base (plâncton) até os organismos de topo (peixes predadores e mamíferos) principalmente pela via alimentar (BISINOTI & JARDIM, 2004).

Segundo Rainbow (2002; 2007) a concentração de metais no corpo de invertebrados marinhos varia entre os metais e entre os táxons, visto que cada organismo tem seus padrões de acumulação e excreção específicos para cada metal. De modo geral, para os metais essenciais (utilizados no metabolismo celular), tais como Zn, Cu, Cd os organismos podem ser divididos basicamente em três grupos com base em seus padrões de bioacumulação: (1) reguladores, onde as taxas de entrada e de excreção de metais são mantidas iguais, sendo que quanto maior a concentração externa maior a taxa de entrada de metais no organismo, até ser atingido um limiar onde a taxa de entrada supera a taxa de excreção (saída), momento em que ocorre a toxicidade (ou seja, regulam a concentração interna de metais); (2) Acumuladores (mais comuns), como por exemplo os cirripédios (Cracas), que estocam Zn em grânulos sem excretá-los, elevando a concentração de Zn corporal porém sem a produção de efeitos tóxicos, pois estes grânulos são insolúveis e inertes. Neste caso, a toxicidade vai ocorrer quando a taxa de entrada for maior que a taxa de detoxificação (formação dos grânulos); (3) Acumuladores com alguma excreção, os anfípodos estão dentro deste grupo, pois acumulam Cu em grânulos insolúveis até certo ponto, e posteriormente passam a excretá-los por meio das fezes.

Já para os metais não essenciais, tais como Pb e Hg, os invertebrados aquáticos apresentam dois padrões de bioacumulação: acumulam sem excretar, ou acumulam com alguma excreção. Independentemente da excreção ou não, diferentemente dos metais que possuem alguma função metabólica, estes elementos não essenciais devem ser rapidamente detoxificados e inativados para que não causem toxicidade aos organismos (RAINBOW, 2002).

Sendo assim, uma concentração que pode ser considerada alta (i.e. promove toxicidade) para uma espécie pode ser baixa para outra, e cada metal possui um padrão de cinética de acumulação diferente. Rainbow (2007) ainda afirma que independentemente da concentração de metal encontrada no organismo, o efeito tóxico só será notado quando a taxa de entrada de metal for maior que as taxas combinadas de detoxificação e excreção, ou seja, quando o metal acumulado ultrapassou o limiar para que ocorra toxicidade.

Em virtude da grande preocupação em proteger/conservar os ambientes marinhos e costeiros, assim como seus bens de serviços, a ecotoxicologia aquática é uma das ciências que mais se desenvolveu nos últimos anos, pelo fato de detectar e quantificar os efeitos biológicos dos contaminantes, além de fornecer informações sobre a qualidade da água e dos sedimentos. Além disso, as informações geradas auxiliam na definição de áreas críticas e na avaliação de riscos ecológicos, sendo importantes para o monitoramento ambiental (ABESSA, 2002).

Nesse contexto, os efeitos analisados pelos testes de toxicidade podem ser letais ou subletais. Os efeitos letais, como o próprio nome sugere, correspondem à mortalidade de organismos, normalmente os testes que avaliam este tipo de efeito são os testes de toxicidade agudos, caracterizados por possuírem um curto período de tempo em relação ao tempo de vida do organismo teste (RAND & PETROCELLI, 1985; GHERARDI-GOLDSTEIN *et al.*, 1990).

Já os efeitos subletais, são aqueles que não levam a morte do organismo diretamente, porém podem causar alterações no crescimento, reprodução, desenvolvimento, taxas metabólicas, etc. Se tais efeitos subletais forem prolongados podem levar à morte do organismo, e/ou a alterações ecológicas. Normalmente estes efeitos são avaliados por testes de toxicidade crônica, que se caracterizam por terem um período de tempo que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo teste (em geral, superior a 72h para invertebrados) (RAND e PETROCELLI, 1985; COSTA *et al.*, 2008).

A avaliação de risco ecológico (em inglês - *Environmental Risk Assessment*, ERA), consiste em um processo que estuda a probabilidade de efeitos ecológicos adversos ocorrerem ou já estarem ocorrendo devido à exposição a um ou mais agentes estressores (USEPA, 1992). A compreensão e predição dessas possíveis relações entre os estressores e efeitos ambientais torna possível que os tomadores

de decisão adotem ações efetivas visando uma real melhoria da qualidade ambiental (USEPA 1998).

O risco ambiental depende da natureza de cada estressor, e de sua interação com componentes específicos da biota e ecossistema, desse modo cada ERA deve ser conduzida seguindo-se um protocolo específico. Entretanto, três passos fundamentais devem constar em quaisquer ERA: (I) caracterização do efeito; (II) da exposição e; (III) avaliação da interação entre efeito e exposição (Campos *et al.*, 2015).

Esta relação de causa-efeito entre estressores e biota, compreende um passo fundamental para a gestão e preservação do meio ambiente, tornando-se um ponto crítico em qualquer avaliação de risco ecológico. Contudo, na maioria das vezes o estabelecimento dessas relações não é fácil, ainda mais se tratando de matrizes ambientais como os sedimentos, que são complexos e refletem características de múltiplos estressores. Para isto é necessária uma avaliação acurada do ecossistema e das matrizes ambientais que o compõe, identificando os principais estressores e suas origens, as vias de exposição, e outros atributos que possam influenciá-los, levando-se em conta não somente o presente, mas também condições pretéritas. Para tal, torna-se fundamental a utilização de múltiplas linhas de evidências, cada qual com suas limitações e qualidades, de modo que cada técnica utilizada forneça informações novas que poderão ser utilizadas no processo de tomada de decisão (BURTON & JOHNSTON, 2010).

Numa perspectiva de ERA os testes de toxicidade aguda e crônica destacam-se como importantes linhas de evidências utilizadas para caracterização dos efeitos. A identificação de respostas de modelos biológicos (como organismos representativos do ecossistema e sensíveis à contaminação), através dos testes, integradas aos níveis de contaminação obtidos por quantificações químicas e que caracterizam a exposição, são componentes fundamentais para uma ERA. Além disso, respostas subletais como análises de biomarcadores, ou indicadores de comunidade como os índices ecológicos, análise de bioacumulação, e TIE (Avaliação e Identificação da Toxicidade - do inglês *Toxicity Identification Evaluation*) constituem linhas de evidência complementares (BURTON *et al.*, 2002. CHAPMAN & HOLLERT, 2006).

A Avaliação e Identificação da Toxicidade, ou TIE, é uma abordagem capaz de demonstrar a relação de causa e efeito entre contaminantes e organismos, que se baseia em manipular as condições físico-químicas da amostra a fim de isolar ou mudar a concentração de diferentes grupos químicos que podem potencialmente estar causando a toxicidade, de modo a descobrir a contribuição de cada um deles na expressão dos efeitos tóxicos (USEPA, 2007).

A TIE pode ser dividida em três fases: caracterização (Fase I), identificação (Fase II) e confirmação (Fase III). Na Fase I, são realizadas manipulações, para remover grupos tóxicos ou aumentar a reatividade de algum grupo químico presente, as quais modificam o perfil de toxicidade da respectiva amostra. A fase II é a realizada com procedimento mais refinado para especificar a categoria dos poluentes potencialmente identificados na fase I. Na fase III são confirmadas as substâncias caracterizadas nas fases anteriores (USEPA, 2007).

Esta técnica tem se mostrado eficaz para efluentes, embora para sedimento integral existam ainda poucos estudos, os quais apresentam resultados promissores (ARAÚJO *et al.*, 2013; CAMPOS, 2013), o que demonstra a necessidade de se refinar a técnica e incrementá-la, integrando com outras linhas de evidência já tradicionalmente utilizadas.

Conhecendo-se o histórico de contaminação por metais na Baía de Guanabara, e seus efeitos adversos ao ambiente marinho e estuarino, além da importância ecológica e capacidade dessas regiões estuarinas de reter contaminantes (CHAPMAN & WANG 2001), o presente trabalho assume como hipótese que os metais representam uma importante classe de contaminantes na região em questão, sendo um dos grupos químicos responsáveis pela deterioração da qualidade ambiental. Desse modo, este trabalho tem como principal objetivo avaliar o risco ecológico associado a metais no sedimento da Baía de Guanabara, por meio de um método escalonado baseado em múltiplas linhas de evidência.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo é avaliar o risco ecológico decorrente da contaminação por metais nos sedimentos da Baía de Guanabara, por meio de um método escalonado, integrando as seguintes linhas de evidência:

- I. Caracterizar os sedimentos quanto à geoquímica (i.e., sedimentologia e concentrações de metais em sedimento);
- II. Comparação das concentrações ambientais com guias de qualidade do sedimento (em inglês *Sediment Quality Guidelines*, SQG), e cálculo de índices geoquímicos;
- III. Ensaio de toxicidade crônica utilizando o molusco bivalve *Anomalocardia brasiliensis* e copépodo *Nitocra* sp.;
- IV. Ensaio de toxicidade aguda, utilizando o anfípodo *Tiburonella viscana*, o tanaidáceo *Kalliapseudes schubartii*, e bivalve *Anomalocardia brasiliensis*;
- V. Identificar principais grupos químicos relacionados com a toxicidade das amostras, através do método TIE;
- VI. Integração estatística dos dados geoquímicos e de toxicidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Metodologia Escalonada (*Tiered Approach*)

Avaliações de risco ecológico frequentemente são conduzidas em uma abordagem escalonada, que permite integrar de forma compreensível as múltiplas linhas de evidência (Campos *et al.*, 2016).

Quatro etapas (*Tiers*) foram utilizadas para caracterizar a exposição aos estressores e seus efeitos associados (Figura 1). O *Tier 0* é o primeiro passo e fundamenta-se na identificação da problemática dos metais na região, tendo como principal objetivo identificar através de revisão bibliográfica se a Baía de Guanabara possui um histórico de contaminação e/ou poluição por metais, e também outros possíveis estressores físicos e químicos que podem estar influenciando a qualidade ambiental na região; nessa fase também devem ser identificadas as fontes principais de contaminantes para a região.

O próximo passo, *Tier 1*, consiste na caracterização da exposição e *screening* da contaminação por metais, e conta com a determinação das concentrações ambientais, seguidas de comparações com valores guias de qualidade de sedimento (SQG) ou com os níveis naturais (*background*), e cálculo de índices que nos auxiliem a classificar o grau da contaminação. Os SQG fornecem informações úteis para avaliação de risco ou qualidade ambiental, porém não devem ser usados isoladamente, pois nem sempre refletem as condições do local de estudo, principalmente visto que estes índices foram desenvolvidos em países com clima

temperado e águas mais frias. Burton (2002) ainda afirma que SQG devem ser utilizados apenas em métodos baseados em peso de evidência (*weight of evidence approach*), combinados com outras abordagens, ou como *screening* (i.e., numa abordagem inicial de varredura).

Uma vez caracterizada a exposição, inicia-se o *Tier 2*, que consiste na caracterização e avaliação dos efeitos. Para tanto foram utilizados testes de toxicidade aguda e crônica usando sedimento integral coletado na Baía de Guanabara.

O quarto e último passo, *Tier 3*, fundamenta-se na aplicação métodos para confirmar as relações entre estressores químicos e efeitos observados. No presente estudo, foi aplicada a técnica do TIE, e métodos multivariados para integração dos dados.

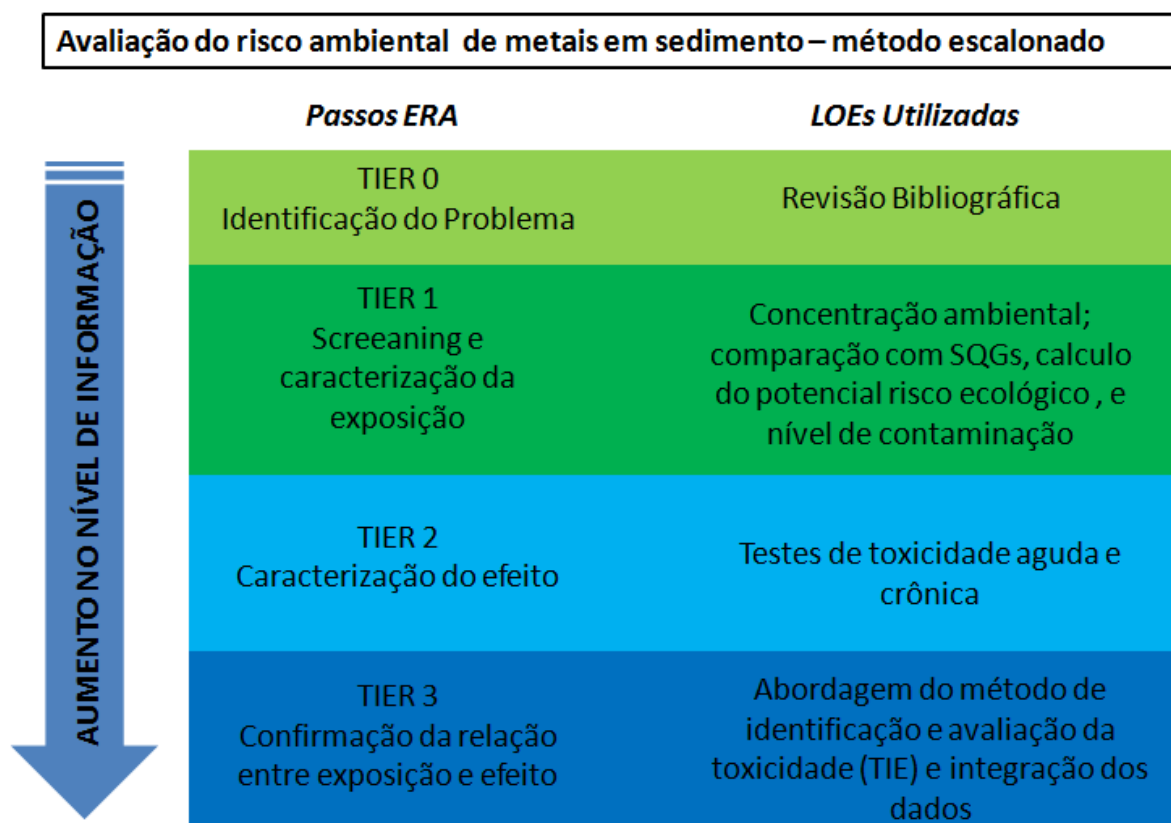


Figura 1: Configuração da Avaliação de Risco Ecológico de sedimentos devido a metais proposto no presente trabalho, para os sedimentos da região da Baía de Guanabara, baseado em diferentes linhas de evidência (LOE), organizadas de modo escalonado.

3.2 Identificação do Problema - Área de estudo

A Baía de Guanabara é um estuário de formato semicircular com 380 Km² e um volume de água de 1.8x10⁹ m³. Cerca de 84% do seu território apresentam

regiões com profundidades inferiores a 10m, porém na região central da baía, a profundidade pode chegar a 40m (FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Sua salinidade é influenciada tanto pelo regime de micromarés presente no local, quanto pela drenagem dos rios e afluentes; em períodos de seca a salinidade costuma variar de 34-29, e nos períodos úmidos, entre 13 e 33 (SOARES-GOMES *et al.*, 2016).

A Baía de Guanabara está localizada no centro da região metropolitana do Rio de Janeiro, a qual possui uma população de mais de 8 milhões de pessoas. A baía possui 91 tributários e as águas de sua bacia de drenagem apresentam um escoamento de aproximadamente 150 m³/s e uma taxa de transferência com o oceano de aproximadamente 10%. O tempo de residência das águas da Baía de Guanabara é de 20±5 dias (REBELLO, 1988).

Trata-se de uma área que oferece inúmeros bens e serviços ecossistêmicos, incluindo os paisagísticos e de recreação, tais como o Pão de Açúcar e o Corcovado, além da possibilidade da pesca e da prática de diversos esportes aquáticos, entre outros. Entretanto, a região também é altamente urbanizada e sofre com impactos de origem antropogênica, tais como descargas contínuas de efluentes industriais, domésticos e em menor escala agrícolas (SOARES-GOMES *et al.*, 2016).

Originalmente o ecossistema predominante nas margens da baía era o manguezal, porém hoje em dia grande parte do mangue já não existe mais devido à urbanização, plantações, atividades antrópicas e poluição. Atualmente as florestas marginais ocupam cerca de 28 Km², os mangues 90Km², marismas (*salt marshes*) em torno de 75 Km²; além disso, há 47 praias arenosas, 65 ilhas, cerca de 3 km² de costões rochosos e um sublitoral extenso com fundo não consolidado (AMADOR *et al.*, 2013). Segundo Soares-Gomes (2016), mesmo com os estressores de origem antropogênica, ainda podem ser encontrados na região 380 taxa de fitoplâncton, 169 de protozooplâncton, 150 de mesozooplâncton, 64 de larvas de peixes, 245 espécies de peixes, 133 espécies de moluscos, 91 de crustáceos e 77 espécies de poliquetos, o que demonstra alta riqueza e diversidade biológica na Baía de Guanabara.

Em relação às fontes de contaminação, aproximadamente 70% das indústrias do Estado do Rio de Janeiro se encontram na região da Baía de Guanabara (COELHO, 2007), das quais se destacam refinarias de petróleo, metalúrgicas,

químicas, indústrias têxteis e de vestuário, atividade portuárias, entre outras. O Porto do Rio de Janeiro e o polo industrial são as duas principais atividades econômicas da região.

O Porto do Rio de Janeiro foi criado em 1910, e hoje em dia apresenta 16 terminais, como por exemplo, o de contêineres, graneis, produtos siderúrgicos, trigo, passageiros, veículos, entre outros. No ano de 2013 a carga total transportada foi de 6.754.467ton, além de 333.000 passageiros (CDRJ, 2016). Dentre as atividades portuárias destacam-se transportes de automóveis, contêineres, eletrônicos, produtos petroquímicos, autopeças, papel, graneis sólidos (carne, soja, trigo, soja, etc), além do turismo, a construção naval e o apoio às atividades petrolíferas *off-shore*.

Além dos efluentes industriais lançados na baía, existe também o problema do esgoto doméstico: estima-se que mais de 50% da população da região não contam com tratamento adequado de esgoto doméstico, o qual é lançado *in natura* na baía, sem nenhum tratamento (CEDAE, 2014). Trabalhos pretéritos indicam que o sedimento da Baía de Guanabara é tóxico, com elevadas concentrações de metais (Tabela 1) e encontra-se inadequado à vida aquática (MARANHO *et al.*, 2009, 2010). A poluição também ameaça outra importante atividade comercial, a pesca, que no ano de 2002 rendeu apenas com a captura de *Cetengraulis edentulus* (Anchoa do Atlântico) um valor comercial de 4.8 milhões de dólares (JABLONSKI *et al.*, 2006).

Tabela 1: comparação na literatura da concentração de metais na Baía de Guanabara, com os valores máximos e mínimos indicados em ppm.

Autores	Pb(ppm)	Zn(ppm)	Cu (ppm)	Cr (ppm)	Ni (ppm)	Extração
Pereira <i>et al.</i> , (2007)	55-450	125-1750	55-900	71,5-222,5	47,5-137	aqua regia
Perin <i>et al.</i> , (1997)	18,2-556	8,6-940	0-242	0,2-322		HF + HNO ₃
Neto <i>et al.</i> , (2006)	2-19340	5-755149	2-18840	2-41364	1-3515.5	HF/HClO ₃
Background ¹	7,03	46,3	9	31	10,35	aqua regia

1- Abreu *et al.* 2016

3.3 Coleta e armazenamento das amostras

As coletas de sedimento foram realizadas em cinco pontos localizados na Baía de Guanabara – RJ (22°47'33.28"S; 43° 8'41.35" O): Porto do Rio de Janeiro

(P1), Porto de Niterói (P2), Foz do Rio Iguaçu (P3), Foz do Rio Meriti (P4) e Guapimirim (P5) no período de maio de 2015 (Figura 2).

Para a coleta das amostras de sedimento, foi utilizado um pegador de fundo do tipo *Van Veen*. As amostras foram embaladas em sacos plásticos e imediatamente resfriadas em gelo. No laboratório, as amostras de sedimentos destinadas aos testes de toxicidade e granulometria foram mantidas em refrigerador a 4° C, até a realização dos ensaios. Já as amostras destinadas às análises químicas foram congeladas (-20°C). O sedimento controle laboratorial foi coletado, na mesma forma descrita acima, na região do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia/SP, uma unidades de conservação de proteção integral, limpa e livre de contaminantes de origem antrópica (CAMPOS *et al.* 2016; CRUZ *et al.* 2014).

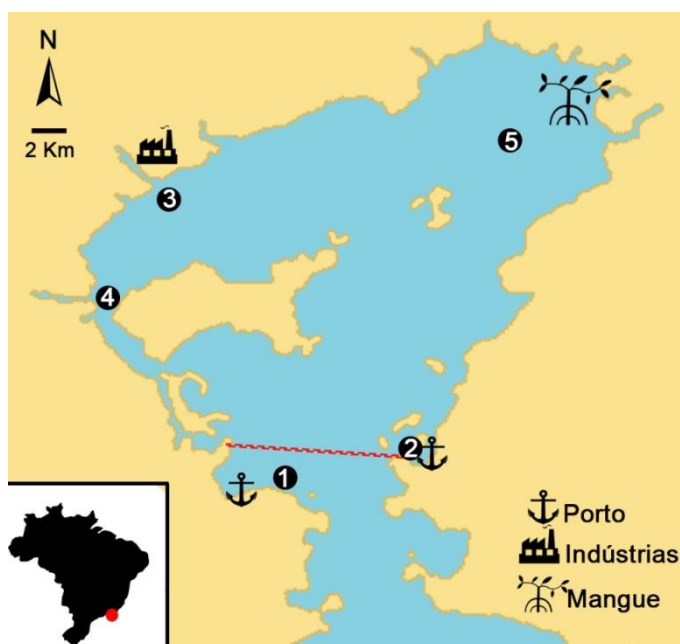


Figura 2: Representação da área de estudo na Baía de Guanabara. Os locais assinalados pelos números de 1 a 5 representam os pontos de coleta (P1 a P5 respectivamente). Sendo P1- Porto do Rio de Janeiro; P2- Porto de Niterói; P3- Foz do rio Iguaçu; P4- Foz do rio Meriti; P5- APA de Guapimirim.

3.4 Caracterização da Exposição

3.4.1 Sedimentologia

Granulometria

Para as análises de granulometria, optou-se por incluir o carbonato de cálcio (CaCO_3) como parte integrante do sedimento, devido às implicações ecológicas e ecotoxicológicas. Uma fração de 100 g de amostra foi separada e seca em estufa a 60 °C por 2 dias. A amostra foi pesada e submetida a um peneiramento úmido em malha de 0,063 mm para retirada de da fração lamosa, após o peneiramento o sedimento foi colocado novamente na estufa por 2 dias sob temperatura de 60°C para ser seco e pesado, aferindo assim a quantidade de silte e argila contida na amostra. Em seguida, o material foi peneirado por 15 minutos em agitador RO-TAP, utilizando-se jogo de peneiras seguindo intervalos de meio ϕ na escala de Went-Worth. A fração retida em cada peneira foi pesada e registrada. Com os resultados foram calculadas as classificações granulométricas de Shepard (1954) e obtidos os teores de areia e lama, segundo classificação de Folk & Ward (1957).

Teor de Carbonato de Cálcio (CaCO_3)

O teor de Carbonato de Cálcio (CaCO_3) foi mensurado com base no método descrito por Hirota & Szyper (1975). Foram separadas frações de 5g do sedimento para cada ponto e adicionados 10 mL de ácido clorídrico (HCl 5N) por 24 horas, para eliminação dos CaCO_3 . Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada e posteriormente secas em estufa a 60°C durante 24 horas. A diferença entre o peso inicial e final mostrou a quantidade de CaCO_3 existente em cada uma das amostras.

Matéria Orgânica (MO)

O método para medir teor de matéria orgânica foi descrito por Luczak *et al.*, (1997). Foram separados 5g de sedimento seco, sem CaCO_3 , de cada amostra,. Os sedimentos foram colocados em cadinhos previamente pesados e incinerados em mufla a 500°C durante 3 horas. A quantidade de matéria orgânica foi obtida pela diferença do peso inicial e do final, sendo posteriormente calculados os respectivos valores em porcentagem.

3.4.2 Análises Químicas (Extração Forte)

Os sedimentos foram submetidos à extração de frações fortemente ligadas com ácido nítrico concentrado e ácido clorídrico (método US.EPA 3050 B).

Primeiramente as amostras de sedimentos foram secas em estufa a 60°C, e posteriormente maceradas. Uma vez que os sedimentos atingiram uma textura homogênea, 1 g de sedimento de cada amostra foi transferido para tubos de vidro. Todo o procedimento foi realizado em bloco digestor a 95°C. Nos tubos de 5ml foi adicionado HNO₃ na proporção de 1:1 e aguardou-se entre 10-15min. Após esse período, foram adicionados 2,5ml de HNO₃ concentrado e após 90min foi adicionado 1ml de H₂O₂ e água ultrapura. Após mais 120min os tubos receberam 1ml de H₂O₂ a cada 15min até atingir o volume final de 5 ml. Ao final, foram adicionados 5ml de HCl e mantidos no bloco digestor por mais 15min e retirados do aquecimento. Os tubos foram então resfriados e o volume foi ajustado para 50 ml com água ultrapura e filtrado, sendo mantidas em refrigeração até o momento da análise. O controle e a garantia de qualidade das amostras contendo os materiais de referencia bem com os brancos contendo os reagentes passaram pelos mesmos procedimentos.

A quantificação dos metais foi realizada por espectrômetro de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

3.4.3 Guias de qualidade de sedimento (SQG)

Os Guias de Qualidade de Sedimento têm sido utilizados como uma ferramenta interpretativa na avaliação da possibilidade de um determinado composto químico produzir efeitos biológicos adversos, indicando o grau de contaminação, e predizendo efeitos tóxicos na biota (PEKEY, 2004; CHAPMAN & MANN, 1999, SCRIMSHAW *et al.*, 2007). Os valores de metais encontrados na Baía de Guanabara pelo presente estudo foram comparados com dois grupos de SQG:

1. ISQG (do inglês *interim sediment quality guidelines*) e PEL (do inglês *probable effect levels*) estabelecidos pela agência ambiental canadense (Environment Canada).
2. *Low* (referente à classificação "*not polluted*" representando o limite inferior dos valores de qualidade de sedimento), e *High* (referente à "*highly polluted*" representando o limite superior dos valores de qualidade de sedimento) estabelecidos por Choueri *et al.*, (2009) para o Estuário de Santos/SP.

3.4.4 Fator de Enriquecimento (FE)

O fator de enriquecimento é uma ferramenta útil capaz de diferenciar se as concentrações dos diferentes elementos são naturais ou oriundas de atividades antropogênicas, e os valores foram calculados da seguinte forma, seguindo-se o método descrito por Buruaem *et al.*, (2012):

$$FE = \frac{C - C'}{C'}$$

Onde:

C= Concentração de um dado metal de uma determinada amostra;

C'= Valor de *Background* ou de referencia do dado metal (MONTEIRO *et al.*, 2012).

Valores de FE superiores a um podem indicar que a fonte da contaminação é de origem antropogênica. Já o fator de enriquecimento total (R) para uma determinada amostra, é obtido a partir da média dos FE de todos os metais, como pode ser visto na fórmula abaixo.

$$R = \frac{\sum FE}{n}$$

Onde n representa o número de metais.

Utilizando estes cálculos, a classificação das amostras seguiu o seguinte critério: $R < 1$ não contaminado, $1 < R < 2$ pouco contaminado, $2 < R < 3$ moderadamente contaminado, e $R > 3$ muito contaminado (BURUAEM *et al.*, 2012)).

3.4.5 Índice de Geoacumulação (Igeo)

Semelhante ao fator de enriquecimento, o índice de geoacumulação, proposto por Müller (1979) tem sido amplamente utilizado para medidas de contaminação de solo (NEMR *et al.*, 2016; ABREU, 2016; BURUAEM, 2012; REZAEE *et al.*, 2011). Este índice pode ser obtido através da fórmula a baixo.

$$I_{geo} = \log_2\left(\frac{C}{1,5 \times C'}\right)$$

Onde:

C= Concentração de um dado metal de uma determinada amostra;

C' = Valor de *Background* ou de referência do dado metal (MONTEIRO *et al.*, 2012).

Os valores obtidos de Igeo podem ser classificados quanto à intensidade da contaminação como ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2: Classificação do nível de Poluição a partir dos valores de Igeo calculados.

Igeo	Nível de contaminação
<0	Nível basal
0 a 1	Não contaminado
1 a 2	Não contaminado a moderadamente contaminado
2 a 3	Moderadamente contaminado
3 a 4	Moderadamente a muito contaminado
4 a 5	Muito contaminado
>5	Altamente contaminado

3.4.6 Índice Geoquímico

A fim de se obter uma média do quociente de toxicidade para um determinado metal em um sedimento com múltiplos contaminantes, utilizou-se do Índice Geoquímico, descrito na equação a baixo (ABREU *et al.*, 2016).

$$HighQ = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{Mi}{HighI}}{n}$$

Onde "Mi" é a concentração do metal no sedimento, "HighI" são os valores dos guias de qualidade de sedimento para o elemento "i" (O SQG escolhido para este índice foi o de Choueri *et al.*, 2009) e "n" números de metais.

Os valores de HighQ obtidos podem ser classificados quanto ao nível de contaminação como pode ser visto na tabela abaixo (Tabela 3).

Tabela 3: Classificação o nível de contaminação segundo os valores de HighQ, obtido através do calculo do índice geoquímico.

>1,5	alta
0,5-1,5	média a alta
0,1-0,5	média a baixa
<0,1	baixa

3.5 Caracterização do Efeito (Testes de Toxicidade)

3.5.1 Parâmetros Físico-químicos

Em todos os testes realizados, os parâmetros físico-químicos da água, tais como salinidade, temperatura, pH, oxigênio dissolvido foram medidos no início e no fim dos testes, sendo apenas a concentração de amônia medida no final dos testes.

O método da quantificação da amônia nas amostras ambientais aquosas foi adaptado de Weatherburn (1967). Para tal, foram utilizadas as seguintes soluções:

- Salicilato de Sódio: Para esta solução, 6,8 g de Salicilato de Sódio, 5g de Citrato de Sódio, 5g de Tartarato de Sódio, e 0,025g de Nitroprussianato de Sódio foram diluídos em 100ml de água MiliQ.
- Solução de Hidróxido de Sódio: Para tal, foram diluídos 6g de NaOH em 100ml de água Mili.
- Solução Bleach: Foi preparada utilizando 0,2ml de Hipoclorito a 10% e 9,8ml da solução de Hidróxido de Sódio mencionada acima.
- Estoque de 10ppm de Amônia: A solução foi obtida pela diluição de 0,0235g de Sulfato de Amônia em 500ml de água MiliQ.

Em seguida foi preparada uma curva-padrão de Amônia, utilizando as concentrações nominais de 0, 0,5, 1, 2, 5, 10 ppm

Para preparação das amostras, foram adicionados 20µl de amostra, 90µl de Salicilato e 10µl da solução Bleach.

As amostras foram lidas em Espectrofotômetro, de modo que em todas as placas necessariamente deveria haver no mínimo 2 réplicas de cada amostra e da curva.

3.5.2 Testes de Toxicidade Aguda

3.5.2.1 Teste de sobrevivência com sedimento integral utilizando tanaidáceo

A espécie de tanaidáceo *Kalliapseudes schubartii*, crustáceo bentônico escavador de águas salobras que possui hábito infaunal suspensivoro, está entre as espécies mais abundantes nos ambientes estuarinos da costa sudeste brasileira, possui grande importância na cadeia trófica, visto que faz parte da dieta de inúmeros peixes e crustáceos de reconhecido valor econômico (BEMVENUTI, 1987; CAPTOLI *et al.*, 1978), além de aves.

Para os ensaios de toxicidade aguda com sedimento integral foi utilizado o protocolo descrito por Zamboni & Costa (2002). Os exemplares de *Kalliapseudes schubartii* foram coletados em um banco de areia na região estuarina da Ilha do Cardoso, Cananéia (SP), com auxílio de uma draga manual especialmente desenvolvida para este fim. Foram feitos arrastos de fundo e os tanaidáceos retidos foram retirados com uma peneira de malha de 1 mm e armazenados em frascos de polietileno contendo água e sedimento do local. No laboratório, os tanaidáceos foram transferidos para bacias plásticas contendo água do mar a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, salinidade 30 ± 2 , e uma camada de aproximadamente 1,5-2,0 cm de sedimento proveniente do local da coleta dos organismos. O período de aclimação foi de 2 dias, sob aeração e iluminação constantes.

O teste foi preparado em duplicata com frascos de polietileno de 500ml, onde cada frasco recebeu cerca de 150g de sedimento a ser testado e 300 ml de água de diluição (salinidade 30). Cada réplica foi conectada a um sistema de aeração e permaneceu em repouso por 24h para equilíbrio do sistema. No próximo dia, antes da introdução dos organismos foram medidos os parâmetros físico-químicos (pH, oxigênio dissolvido, salinidade, e temperatura), e 15 organismos foram colocados em cada câmara teste. A cada dois dias a salinidade foi monitorada, enquanto a temperatura foi monitorada diariamente. O experimento durou 10 dias, e foi inspecionado diariamente para observação de organismos mortos ou ecdises na superfície da água, os quais foram retirados das câmaras teste. Ao final do teste, o material contido nos frascos foi peneirado em malha de $500\mu\text{m}$. Indivíduos não encontrados foram considerados mortos. Os indivíduos foram considerados vivos apenas quando houve movimentação dos apêndices.

3.5.2.2 Teste de sobrevivência com sedimento integral utilizando anfípodo

Para o ensaio de toxicidade aguda com sedimento integral foi utilizado o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*. Para realização dos testes de toxicidade aguda seguiu-se o protocolo descrito por Melo & Abessa (2002), e pela norma NBR-15638 (ABNT 2008), os quais por sua vez foram adaptados a partir dos procedimentos desenvolvidos por Swartz *et al.*, (1985) e Nipper *et al.*, (1989).

Os exemplares de *T. viscana* foram coletados na Praia do Engenho D'Água, município de Ilhabela, no nível inferior da zona entre-marés, com auxílio de uma

draga manual especialmente desenvolvida para este fim. Foram feitos arrastos de fundo e os organismos retidos foram retirados com uma peneira de malha de 1 mm e armazenados em frascos de polietileno contendo água do mar e sedimento do local. No laboratório, os anfípodos foram transferidos para bacias plásticas contendo água do mar a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, salinidade 34 ± 2 , e uma camada de aproximadamente 1,5-2,0 cm de sedimento proveniente do local da coleta dos organismos. O período de aclimação foi de 2 a 7 dias, sendo o sistema mantido em condições de aeração e iluminação constantes.

O teste foi preparado em frascos de polietileno de 1L. Cada frasco recebeu cerca de 200 gramas da amostra de sedimento a ser testado (3 réplicas para cada amostra), além de mais 750 mL de água de diluição. O mesmo tipo de preparação foi feito com os sedimentos controles. Cada réplica foi conectada a um sistema de aeração e permaneceu em descanso por 24h para equilíbrio das condições físico-químicas do sistema. No dia seguinte, antes da introdução dos organismos nas câmaras teste, foram medidas as variáveis físico-químicas da água: pH, oxigênio dissolvido, salinidade, e temperatura. A salinidade foi monitorada a cada 3 dias, a partir de uma alíquota retirada de pelo menos uma réplica, e a temperatura observada diariamente. Apenas animais sadios e não ovados, com movimentação dos apêndices e morfologia normais, foram adicionados aos frascos. Com auxílio de uma pipeta de boca larga, foram colocados 10 anfípodos em cada réplica, onde permaneceram por 10 dias sendo que as condições do teste foram similares às do período de aclimação. O experimento foi monitorado diariamente para observação de organismos mortos ou ecdises na superfície da água, os quais foram retirados dos frascos. Ao final do teste, o material contido nos frascos foi peneirado em malha de 0,45 mm. Indivíduos não encontrados foram considerados mortos. Os indivíduos foram considerados vivos apenas quando houver movimentação dos apêndices.

3.5.2.3 Teste de sobrevivência com sedimento integral utilizando bivalve

Para este ensaio de toxicidade aguda foi utilizado o bivalve *Anomalocardia brasiliiana*, os quais foram coletados em um banco de areia na região estuarina da Ilha do Cardoso, Cananéia (SP). Foram montadas 3 réplicas em câmaras contendo uma camada de aproximadamente 5 cm de sedimento (cerca de 500g, porém como visto em testes pretéritos, independentemente do volume, os organismos

necessitam de uma camada de aproximadamente 5cm para se enterrarem) e 3L de água do mar com salinidade 30, coletada no mesmo ponto de coleta dos animais (Figura 3). Após equilíbrio do sistema (24h) foram colocados 6 organismos saudáveis em cada câmara teste, e então o teste foi mantido sob fotoperíodo (12h claro: 12h escuro), com aeração constante e temperatura (25 ± 2 °C) constantes, sem adição de alimento. Após 20 dias os organismos vivos foram contados e sacrificados para posterior análise de bioacumulação (dados ainda não publicados). Diariamente eram analisadas temperatura salinidade e a presença de organismos mortos (quando esses eram constatados eram retirados imediatamente do sistema).



Figura 3: Exposição dos bivalves ao sedimento da Baía de Guanabara para teste de toxicidade aguda.

3.5.2.4 Teste de tempo de enterramento - *A. brasiliiana*.

Foram avaliados efeitos sobre tempo de enterramento e sobrevivência ao ar, a partir da exposição dos bivalves da espécie *A. brasiliiana* às amostras. O tempo de enterramento em bivalves é um parâmetro de fácil medição e que consiste numa resposta direta do organismo com o meio em que se encontra (DONN & ELS, 1990). Este ensaio tem sido utilizado como *endpoint* em muitos testes de toxicidade sub-letais (SHIN *et al.*, 2002; RUIZ *et al.*, 1994). No início do teste de toxicidade aguda com *A. brasiliiana* (tópico 3.5.3.3), logo após os animais serem introduzidos nas câmaras-teste e expostos aos sedimentos, foram feitas contagens do número de

organismos enterrados em cada réplica, a cada 5 minutos, durante 80 min para o cálculo da taxa de enterramento médio para cada ponto.

3.5.3 Testes de Toxicidade Crônica.

3.5.3.1 Teste com sedimento integral utilizando copépodo

O teste de toxicidade crônica de sedimento integral seguiu o protocolo padronizado por Lotufo & Abessa (2002), utilizando o copépodo harpacticóide *Nitocra* sp. O organismo-teste apresenta ciclo de vida relativamente curto (3 a 4 semanas), alta sensibilidade, é estuarino, bentônico, cosmopolita e de fácil cultivo.

O teste consistiu na exposição de 10 fêmeas ovadas ao sedimento a ser analisado, por um período de 10 dias, com iluminação constante, sendo avaliada a reprodução dos indivíduos expostos. Aproximadamente 2 mL de sedimento homogeneizado foram adicionados em frascos de cintilação e, em seguida, foram adicionados 8 mL de água de diluição em cada réplica. Após 24 horas, as fêmeas ovadas foram separadas do cultivo e acondicionadas nos frascos de cintilação. Foram utilizadas 4 réplicas por amostra.

A alimentação consistiu na adição de 100 µL de uma mistura de levedura e água no início do experimento. Os frascos foram mantidos sem aeração e em temperatura constante ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) num ciclo de 16h de luz e 8h de escuro. Ao final do experimento, o teste foi fixado e corado com uma solução de formalina 10% e Rosa de Bengala, e posteriormente analisado. Os organismos foram retirados do sedimento com auxílio de uma peneira de malha de porosidade de 45 µm. O material retido na peneira foi levado ao microscópio estereoscópico onde foram identificados e classificados como fêmeas (adultos) e prole (náuplios e copepoditos). As variáveis físico-químicas (salinidade, oxigênio dissolvido, temperatura e pH) foram medidas no início e no término do experimento.

Para avaliar a sensibilidade do lote de organismos utilizados no experimento foi realizado paralelamente um teste com a substância de referência dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) dissolvido em água de diluição. Utilizando béqueres de 40 mL foram feitas 3 réplicas de cada concentração a ser testada (5, 10, 15, 20 e 30 mg L⁻¹), além dos controles contendo apenas água de diluição. Posteriormente foram adicionadas 10 fêmeas adultas a cada réplica. A CL₅₀ obtida para o período de 96h foi comparada com a carta controle do laboratório.

3.6 Confirmação da relação exposição/efeito - TIE com sedimento total

O método do TIE (Avaliação e Identificação da Toxicidade, do inglês “*Toxicity Identification Evaluation*”) tem como principal objetivo identificar quais são os grupos químicos responsáveis pela toxicidade em uma amostra ambiental. E isso é realizado através de tratamentos nessas amostras, os quais visam alterar as concentrações ou a biodisponibilidade do grupo químico de interesse. Após as matrizes ambientais em questão serem tratadas, são submetidas a um teste de toxicidade, e por meio da comparação com um *Baseline* (ou seja, com a amostra original não tratada), descobre-se se o grupo químico de interesse que contribui para a toxicidade (Figura 4).

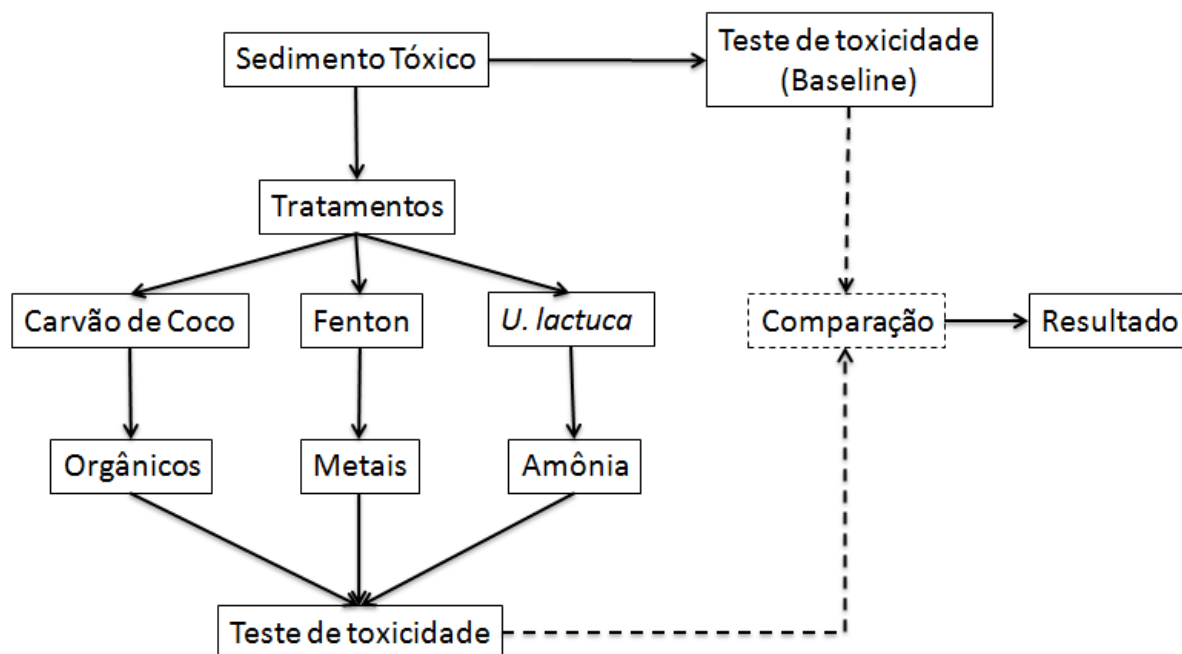


Figura 4: Esquema da fase I do teste de TIE realizado no presente trabalho. Sedimento tóxico é submetido a três tratamentos distintos, visando remover contaminantes orgânicos, metais e amônia respectivamente. Após estes tratamentos os sedimentos são testados quanto à toxicidade em paralelo com seus respectivos *Baselines*. A comparação da toxicidade do *Baseline* com a do sedimento tratado fornece informações sobre a possibilidade do grupo químico em questão ser o causador da toxicidade.

O TIE foi conduzido com base no protocolo desenvolvido pela USEPA (2007) com adaptações baseadas no trabalho de Araújo *et al.*, (2013), Campos *et al.*, e experimentos prévios. Foram realizados três tratamentos distintos: (1) tratamento com a macroalga *Ulva lactuca*, visando reduzir as concentrações de amônia; (2) tratamento com reagente de Fenton, visando imobilizar os metais; (3) tratamento

com carvão de casca de coco, visando remoção dos contaminantes orgânicos. Após o tratamento das amostras de sedimento, elas foram submetidas, juntamente com a amostra *Baseline*, ao teste de toxicidade crônica com copépodo *Nitocra sp*, (ver protocolo descrito no tópico 3.5.4.1). O sedimento controle é submetido aos mesmos procedimentos e tratamentos que as demais amostras (P1 ao P5), possibilitando estimar possíveis efeitos dos tratamentos em si, sem a presença de contaminantes.

Tratamento com Ulva lactuca.

A manipulação visando reduzir a concentração de amônia consistiu em tratamento com a alga *Ulva lactuca*. Exemplares de *U. lactuca* foram coletados em área livre de poluentes, aclimatados em água marinha limpa e aerada, e permaneceram num ciclo de 16h de luz e 8h de escuro por 4 dias. Foram adicionados em cada câmara teste 0,5g da macroalga, e mantidos por 24h em iluminação contínua. Após 24h a alga foi retirada, e posteriormente foi iniciado o teste de toxicidade crônica com copépodo *Nitocra sp* (utilizando o protocolo descrito na seção 3.5.3.1, deste trabalho), considerando portanto o sedimento já tratado.

Tratamento com Reagente de Fenton

Para imobilização dos metais do sedimento, foi realizada a adição de sulfetos, a partir da introdução da solução de Reagente de Fenton nas amostras de sedimento. A solução foi adicionada ao sedimento na proporção de 0,5mmol de FeSO_4 para 50 mmol de H_2O_2 , (0,018g de FeSO_4 e 1,35ml de H_2O_2), em cada frasco-teste. O sistema foi mantido em equilíbrio por 15 dias para estabilização do pH e da formação dos complexos sulfeto-metálicos, posteriormente foi retirada toda a solução do frasco com auxílio de uma seringa, sendo substituída por água de diluição, a qual foi retirada e novamente substituída por água de diluição (procedimento de lavagem necessário para garantia da retirada da solução de Fenton, antes da adição dos organismos). Por fim o sedimento já tratado (5 pontos amostrais mais o controle) foi testado juntamente com o baseline também por meio do teste de toxicidade crônica sobre o copépodo *Nitocra sp*, utilizando o protocolo descrito no presente trabalho.

Tratamento Carvão de Casca de Coco.

Exclusivamente para o tratamento do carvão de casca de coco, que visa remover os compostos orgânicos foi realizada uma diluição de 50% do sedimento com o sedimento controle. Tal procedimento mostrou-se necessário, pois em experimentos prévios com sedimento integral (100%) a remoção da toxicidade não foi bem sucedida, indicando que a carga de contaminantes orgânicos era superior à capacidade de remoção do tratamento.

Para este método o carvão de casca de coco inicialmente foi hidratado nas proporções de 40% de carvão e 60% de água, sendo mantida em vácuo por aproximadamente 18 horas. Posteriormente foram adicionados 15% de carvão de casca de coco hidratada para 85% de sedimento. O sistema foi mantido em equilíbrio por 24h; a partir desse período, o carvão foi retirado e foram iniciados os experimentos de toxicidade crônica.

3.7 Teste de sobrevivência ao ar - *A. brasiliana*

O ensaio de sobrevivência ao ar foi realizado apenas para o sedimento que apresentou maior toxicidade nos testes anteriores (Ponto 3), considerando que um tempo ótimo de resistência ao ar é uma função ecofisiológica importante para bivalves escavadores. O procedimento experimental do teste de sobrevivência ao ar foi adaptado de Matozzo *et al.* (2012), e consistiu na exposição de 10 organismos aos sedimentos controle e do Ponto 3 por 10 dias, com fotoperíodo de 12h claro: 12h escuro, com aeração e temperatura constante (25 ± 2 °C). Após esse período os organismos foram retirados do sedimento e colocados em duas bandejas e deixados ao ar livre, e durante um período de até 20 dias os organismos mortos foram contados diariamente. Então foi mensurado o LT₅₀ (tempo letal para 50% dos organismos expostos ao ar).

3.8 Análise dos Resultados

Os resultados dos testes de toxicidade crônica, e aguda foram comparados ao controle através do teste t'-student para amostras independentes (ZAR, 1996), para determinação das diferenças com os respectivos controles.

Os resultados do teste de TIE foram analisados pela análise de variância (ANOVA) de duas vias, comparando cada tratamento com seu respectivo *baseline*.

Além disso, cada tratamento foi comparado com seu respectivo controle. Nesses testes, o nível de significância (α) utilizado foi de 0,05.

Para os testes com substâncias de referência, as CL_{50} foram estimadas utilizando o método *Trimmed-Spearman-Kärber* com método de correção de Abbot e comparadas com suas respectivas cartas-controle (HAMILTON *et al.*, 1977).

3.9 Integração dos Dados

A integração dos resultados de toxicidade multi-espécies (i.e., toxicidades agudas e crônicas obtidas com as diferentes espécies testadas) foi realizada através de uma matriz a qual possibilitou uma resposta qualitativa dos testes como um todo (Figura 5). A construção desta matriz foi baseada no trabalho de Souza *et al.*, (2015), tendo sido montada em três etapas (Figura 05):

- Etapa 1: Num primeiro momento os resultados dos testes foram individualmente classificados entre "Não Tóxico", "Tóxico" (diferença com o controle significativa mas menor do que 50%) e "Muito Tóxico" (diferença com o controle significativa, sendo ainda igual ou superior a 50%).
- Etapa 2: Uma vez que os dados foram classificados individualmente, seguiu-se para a classificação combinada, porém sem misturar efeitos crônicos e agudos. Primeiramente foram comparadas as toxicidades aguda entre si, e depois as toxicidades crônicas, de forma similar. Desta forma, obteve-se a "*toxicidade crônica combinada*" e a "*toxicidade aguda combinada*". Nesta etapa, cada amostra poderia ser classificada pela sua respectiva "toxicidade combinada", da seguinte maneira: Não tóxica, Potencialmente Tóxica, Tóxica, Muito tóxica. Os critérios para estas classificações são explicados na Figura 5. Deve-se ressaltar que para a obtenção da "*toxicidade crônica combinada*", foi utilizada apenas a classificação individual, visto que só havia um teste crônico (*Nitocra sp.*). Já para obtenção da "*toxicidade aguda combinada*", foram comparados 4 testes, os quais avaliaram a sobrevivência com os organismos *T. viscana*, *A. brasiliana* e *K. schubartii*.
- Etapa 3: A partir destas toxicidades combinadas, foi obtida a "Classificação da toxicidade", integrando os dados de toxicidade aguda e crônica (Figura 5).



Figura 5: Classificação da Matriz de integração dos bioensaios. A classificação individual representa a primeira etapa, descrita no tópico 3.7 enquanto a classificação combinada representa as etapas 2 e 3. Dentro da classificação combinada existem 4 níveis de toxicidade: Muito tóxico, Tóxico, Potencialmente tóxico e Não Tóxico.

Após os resultados dos testes de toxicidade serem integrados, foi montada uma matriz de decisão com estes resultados, a qual também conteve o resultado integrado obtido pelos fatores de enriquecimento e os índices geoquímicos.

Além das matrizes de decisão, este trabalho utilizou também análise de componentes principais (PCA) para integrar os dados ecotoxicológicos, sedimentológicos e geoquímicos. Nesta análise foi utilizado o valor de corte de 0,45, mais conservativo do que o proposto por Tabachnick & Fidell (1989). Para realização da PCA, os dados foram organizados em uma matriz composta pelas seguintes variáveis: teores de Lama, CaCO_3 , e MO, fecundidade de *Nitocra* sp, sobrevivências de *T. viscana*, *A. brasiliiana*, *K. schurbartii*, concentrações de amônia não ionizada e de metais (Fe, Mn, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn).

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da Exposição

4.1.1 Sedimentologia

Os sedimentos se mostraram predominantemente lamosos, com níveis variados de matéria orgânica. Os sedimentos dos pontos P3 e P5 apresentaram as maiores quantidades 18,25% e 10,55% respectivamente. Quanto à granulometria, os sedimentos dos pontos P1 e P2 foram os únicos que apresentaram areia em suas composições (60 e 11% respectivamente), sendo os demais lamosos. Os teores de CaCO_3 foram também variáveis, com maiores porcentagens nas amostras dos pontos P3 e P5. Os dados sedimentológicos podem ser vistos na Tabela 4.

Tabela 4: Granulometria e teores de matéria orgânica e carbonato de cálcio dos sedimentos coletados na Baía de Guanabara e Controle.

	MO (%)	CaCO_3 (%)	Lama (%)	Areia (%)
Controle	5,33	7,62	7,62	79,42
P1	1,6	3,47	34,9	60
P2	4,36	0,67	83,95	11
P3	18,25	9,6	73,14	0
P4	8,83	0,64	90,51	0
P5	10,55	10,43	79,03	0

4.1.2 Análises Químicas

As concentrações dos metais estão na Tabela 5. Em P1, região do Porto do Rio de Janeiro, a concentração dos metais em ordem decrescente foi: $\text{Zn} > \text{Pb} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Ni}$. Para o P2, situado na região do Porto de Niterói, a abundância dos metais em ordem decrescente foi a seguinte: $\text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Mn} > \text{Cr} > \text{Ni}$. Para o P3, ponto localizado na região da foz do Rio Iguaçu, as concentrações foram de: $\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{Ni}$. No sedimento de P4, região da foz do Rio Meriti, a ordem foi $\text{Zn} > \text{Mn} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Cu} > \text{Ni}$. Por fim no P5, região de Guapimirim as concentrações de metais nos sedimentos, em ordem decrescente, foram, respectivamente: $\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cr} > \text{Ni}$.

Tabela 5: Concentrações médias dos metais, em ppm, nos sedimentos dos pontos P1 ao P5 da Baía de Guanabara, e os guias da qualidade de sedimento (em ppm) propostos pela Environment Canada (CCME, 2002), e por Choueri *et al.*, (2009), bem como os valores de *Background* de cada metal para a região (Monteiro *et al.*, 2012).

	P1	P2	P3	P4	P5	Enviromental Canada		Choueri et al. (2009)		Background
						ISQG	PEL	Low	High	
Pb	79,99	73,75	25,89	87,57	12,93	30,2	112	10,3	22,1	7,03
Zn	267,19	298,14	186,08	536,5	50,26	124	271	37,9	61,7	46,3
Cu	54,18	107,18	27,71	76,74	7,26	18,7	108	-	69	9
Cr	13,18	12,72	39,74	83,14	6,92	52,3	160	-	65,8	31
Ni	8,84	4,68	5,66	18,32	2,79	-	-	3,89	6,02	10,35
Mn	65,96	62,69	243,96	109,71	110	-	-	-	-	225,07
Fe (%)	0,77	0,75	1,67	1,08	1,45	-	-	-	-	2,84

4.1.3 Guias de Qualidade de Sedimento (SQG)

SQG/PEL – Environment Canada

As concentrações de metais, assim como a indicação dos limites inferiores (ISQG) e superiores (PEL) estabelecidas pela Agência Ambiental Canadense (CCM, 2002), estão na Figura 6. Para Pb, os sedimentos com concentrações superiores a ISQG foram P1, P2 e P4. Para o Zn, os sedimentos de P2 e P4 apresentaram concentrações maiores que PEL, enquanto que aqueles coletados em P1 e P3 apresentaram concentrações superiores a ISQG, e apenas o sedimento de P5 apresentou concentração inferior a ISQG. Para Cu, os sedimentos de P1, P2, P3 e P4 apresentaram concentrações superiores a ISQG, enquanto a amostra de P5 teve concentração inferior a ISQG. Já para Cr, o único valor acima de ISQG foi observado no sedimento do ponto P4.

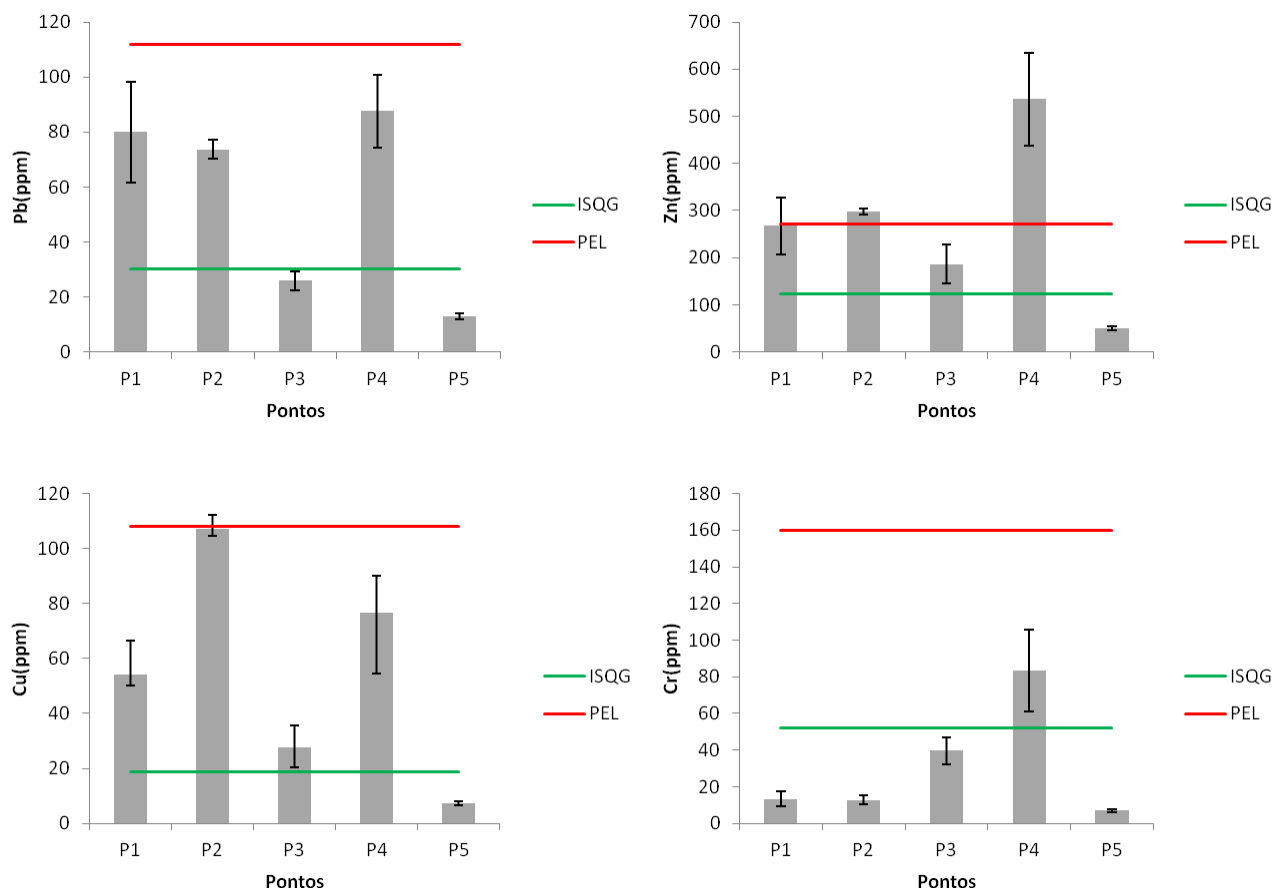


Figura 6: Comparação das concentrações dos metais, Zn, Cu, Pb e Cr encontrados em sedimentos da Baía da Guanabara com os valores de qualidade de sedimento (ISQG/PEL) propostos pela agência ambiental canadense (CCM, 2002).

Valores de Qualidade de Sedimentos nacionais (SQG - CHOUERI et al., 2009)

As concentrações de metais com os limites inferiores (*Low*) e superiores (*High*) estabelecidos por Choueri et al., (2009), estão presentes na figura 7. Para o Pb e o Zn, os sedimentos dos Pontos P1, P2, P3 e P4 apresentaram concentrações superiores às estipuladas como "*highly polluted*", já a amostra de P5 apresentou concentrações superiores às estipuladas como "*not polluted*". Para o Cu, os sedimentos dos pontos P2 e P4 apresentaram concentrações superiores a *highly polluted*. Em relação ao Cr, apenas o a amostra de P4 apresentou concentrações superiores a *highly polluted*.

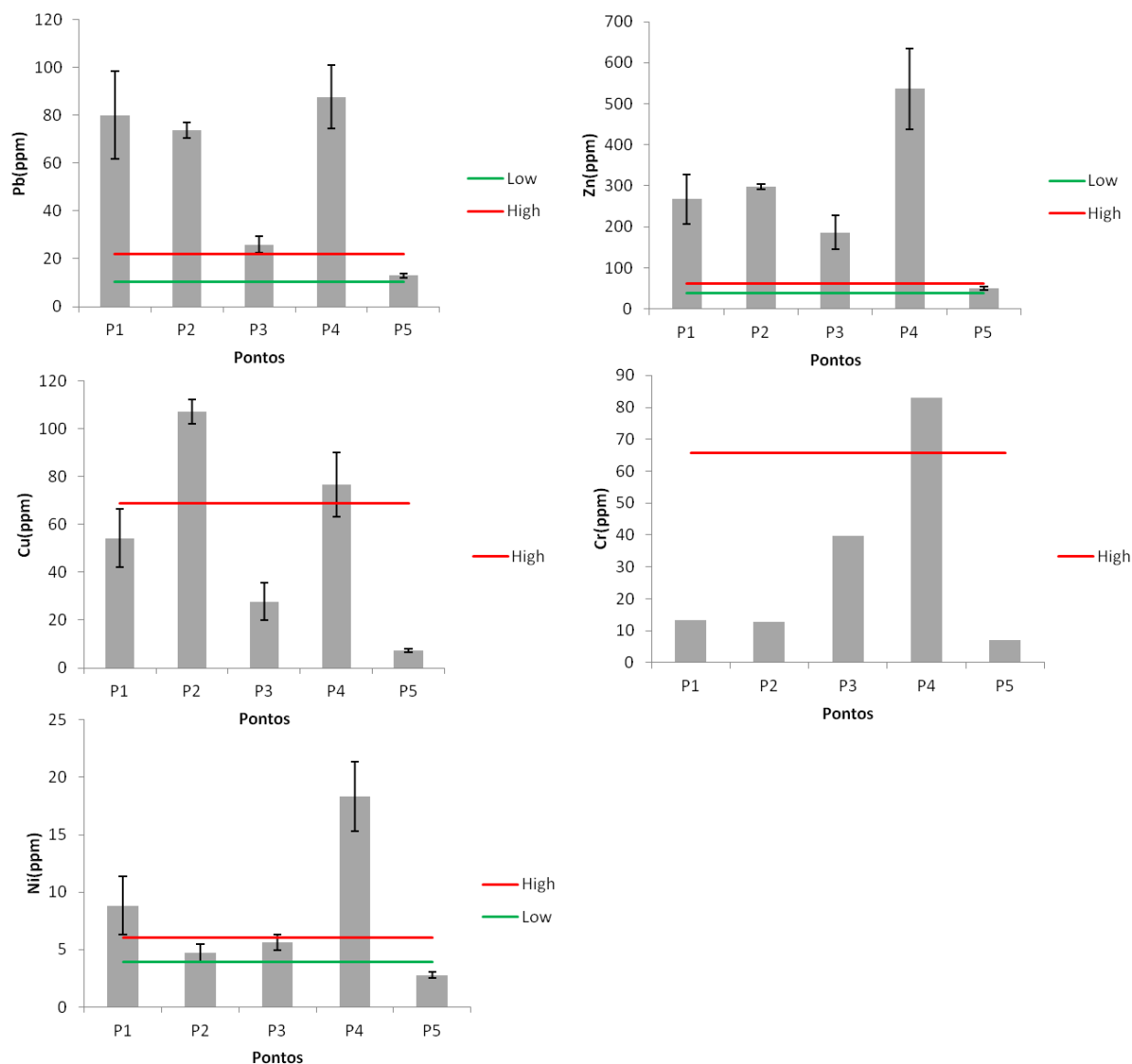


Figura 7: Comparação das concentrações de Zn, Cu, Pb, Ni e Cr encontrados em sedimentos da Baía da Guanabara com os valores de SQG propostos por Choueri et al. (2009).

4.1.4 Fator de Enriquecimento (FE) dos metais traço na Baía de Guanabara

Os resultados dos fatores de enriquecimento estão apresentados na Tabela 6 e na Figura 8. Em P1 os metais Pb, Zn e Cu apresentaram $FE > 1$, classificando a contaminação como de origem antrópica, e um $R = 3,12$ classificando-se esta amostra como altamente contaminada. Em P2 apenas Pb, Zn e Cu foram caracterizadas como contaminação de origem antrópica e seu $R = 4,0$ indicando também esta amostra como altamente contaminada. Em P3, Pb, Zn, Cu apresentaram um $FE > 1$ apontando para uma origem antrópica para estes elementos, porém essa amostra apresentou um $R = 1,28$ indicando baixa

contaminação por esse índice. Para P4 os metais Pb, Zn, Cu e Cr apresentam $FE > 1$ apontando contaminação de origem antrópica, e um $R = 5,25$, sendo esta amostra classificada como altamente contaminada. Por fim, P5 não apresentou nenhum metal com $FE > 1$ sugerindo origem natural para os elementos; além disso, esta amostra apresentou um $R = -0,21$, sendo classificada como não contaminada por este índice. Para Mn, todos os pontos apresentaram $FE < 1$, indicando que a presença desse elemento não é de origem antrópica.

Tabela 6: Fator de enriquecimento (FE) e Fator de enriquecimento total (R).

Pontos	FE						R
	Pb	Zn	Cu	Cr	Ni	Mn	
P1	10,38	4,77	5,02	-0,57	-0,15	-0,75	3,12
P2	9,49	5,44	10,91	-0,59	-0,55	-0,72	4,00
P3	2,68	3,02	2,08	0,28	-0,45	0,08	1,28
P4	11,46	10,59	7,53	1,68	0,77	-0,51	5,25
P5	0,84	0,09	-0,19	-0,78	-0,73	-0,51	-0,21

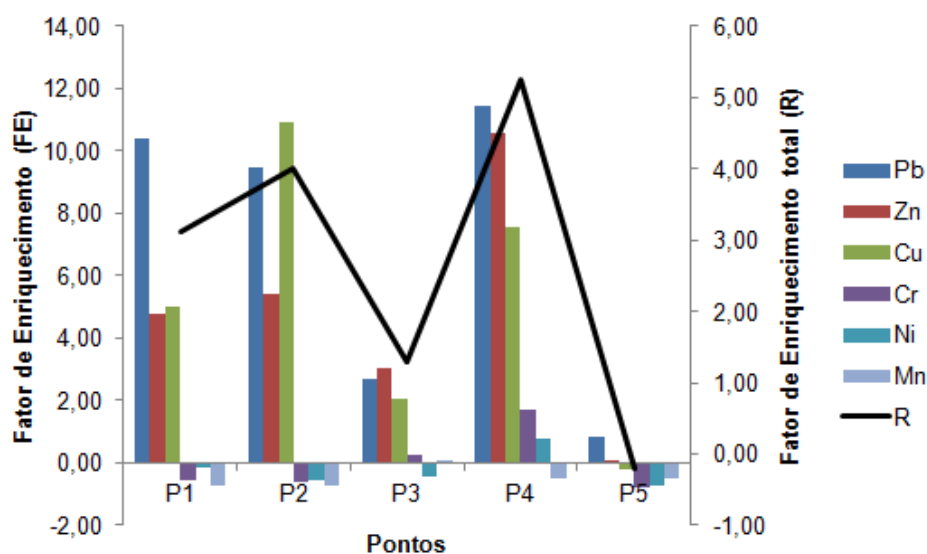


Figura 8: Fator de enriquecimento (FE) (eixo da esquerda) e Fator de enriquecimento total (R) (eixo da direita) para os metais, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, para a região da Baía de Guanabara. Valores de FE superiores a 1 indicam contaminação de origem antrópica.

4.1.5 Índice de Geoacumulação (Igeo)

Os índices de geoacumulação estão presentes na Tabela 7, e Figura 9. Os maiores valores de Igeo foram encontrados para os sedimentos dos pontos P1, P2 e P4, sendo que para P5 a maioria dos metais apresentou um Igeo negativo indicando provável ausência de contaminação (níveis próximos ao *background*).

Tabela 7: Valores dos Índices de geoacumulações (Igeo) obtidos para sedimentos da Baía de Guanabara.

Pontos	Igeo					
	Pb	Zn	Cu	Cr	Ni	Mn
P1	2,92	1,94	2,00	-1,82	-0,81	-2,36
P2	2,81	2,10	2,99	-1,87	-1,73	-2,42
P3	1,30	1,42	1,04	-0,23	-1,46	-0,46
P4	3,05	2,95	2,51	0,84	0,24	-1,62
P5	0,29	-0,47	-0,90	-2,75	-2,48	-1,16

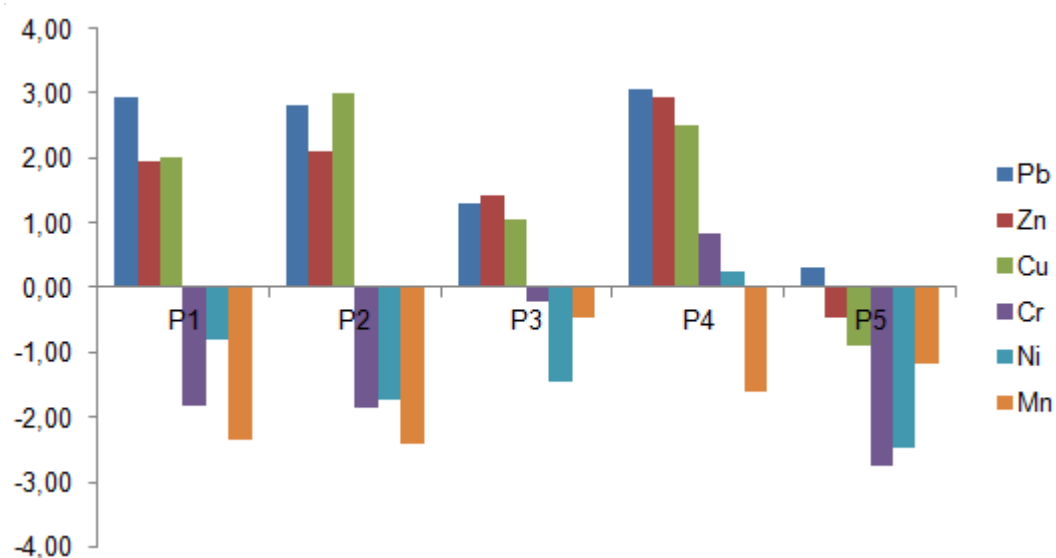


Figura 9: Igeo para os metais, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, encontrados em sedimentos coletados na região da Baía de Guanabara.

4.1.6 Índice Geoquímico (HighQ).

Os quocientes de contaminação de metais obtidos pelo Índice Geoquímico para amostras coletadas em 5 pontos no presente estudo estão presentes na Tabela 8. Esses quocientes indicaram que os sedimentos de P1, P2, e P4 apresentaram um nível de contaminação alta (Tabela 8). De acordo com o Índice Geoquímico, o sedimento do ponto P3 apresentou um nível de contaminação que varia de média à alta. Já o sedimento de P5 apresentou um nível de contaminação que varia de média à baixa.

Tabela 8: Valores de HighQ, obtidos através do cálculo do Índice Geoquímico, para sedimentos da Baía de Guanabara.

Pontos	HighQ	Nível de Contaminação
P1	1,6	Alto
P2	1,7	Alto
P3	0,86	Médio a alta
P4	2,53	Alto
P5	0,29	Médio a baixa

4.2 Caracterização do Efeito

4.2.1 Toxicidade

Sedimento integral, toxicidade aguda – Tiburonella viscana

A Tabela 9 apresenta os valores físico-químicos medidos durante a execução do experimento. O sedimento do ponto P3 foi o que apresentou a maior concentração de amônia não ionizada (tóxica), 1,31mg/L e os sedimentos do ponto P5 e Controle apresentaram concentração menor que 0,07mg/L.

Para esse teste, todos os sedimentos da Baía de Guanabara apresentaram toxicidade ($p > 0,05$) sendo que o sedimento do ponto P3 apresentou letalidade de 100% dos organismos (Figura 10), em P1 observamos sobrevivência de 26,6%, para P2, P4 e P5 as respectivas sobrevivências foram de: 53,3%, 50% e 56,6%.

Tabela 9: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com Anfípodo.

Pontos	Sal		pH		OD (mg/L)		Temp. °C		Amônia (mg/L)
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	
P1	34	33	7,79	8,08	3,3	5,9	23,4	25	0,80
P2	34	34	8,15	8,17	4,8	5,4	23,4	25	0,35
P3	33	30	8,11	8,23	2,9	5,9	23,4	25	1,31
P4	33	33	8,32	8,26	3,9	6	23,4	25	0,21
P5	33	32	8,27	8,47	4,3	6,4	23,4	25	<0,07
Controle	33	6,4	8,92	7,94	5,1	6,6	23,4	25	<0,07

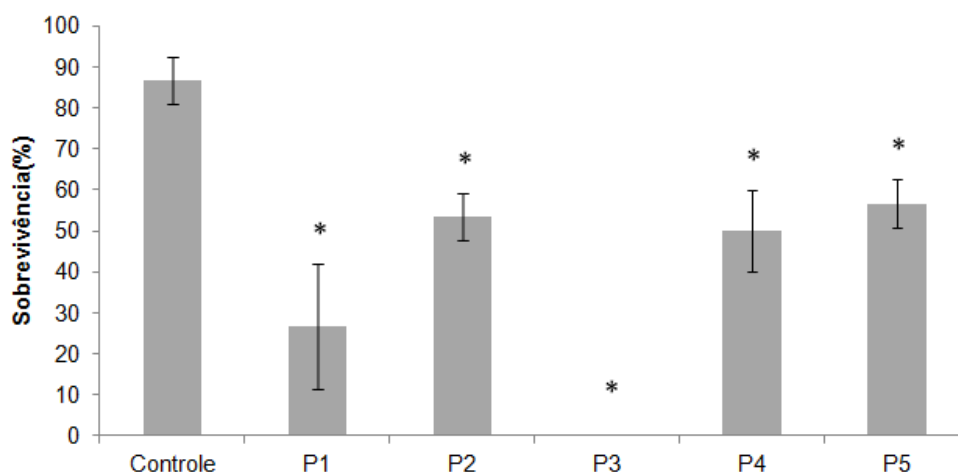


Figura 10: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo *Tiburonella viscana* e sedimento da Baía da Guanabara. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Sedimento Integral, toxicidade aguda – Kalliapseudes schubartii

Os parâmetros físico-químicos do início e final do teste estão apresentados na tabela 10. Os sedimentos que apresentaram a menor concentração de amônia não ionizada foram Controle e P5 ($< 0,07$ mg/L) e a amostra com maior concentração foi P3 (1,27 mg/L.)

Tabela 10: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com Tanaidáceo.

Pontos	pH		OD		Sal		Temp °C		Amônia (mg/L)
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	
Controle	8,17	7,76	4,74	6,35	33	33	25	23	$< 0,07$
P1	7,62	7,98	4,32	6,12	31	32	25	24	0,34
P2	8,14	8,25	5,17	5,81	30	30	25	24	0,43
P3	7,91	8,12	5,67	5,73	34	35	24	25	1,27
P4	8,36	8,29	4,14	5,71	30	30	25	24	0,53
P5	7,82	7,56	5,02	5,35	33	33	25	25	$< 0,07$

Os sedimentos dos pontos P1 a P4 apresentaram toxicidade, destacando o a amostra do ponto P3 que foi a mais tóxica neste teste, apresentando uma sobrevivência de 26,6%, enquanto o P1, P2 e P4 apresentaram uma sobrevivência de 65%, 36,6% e 31,6% respectivamente (figura 11).

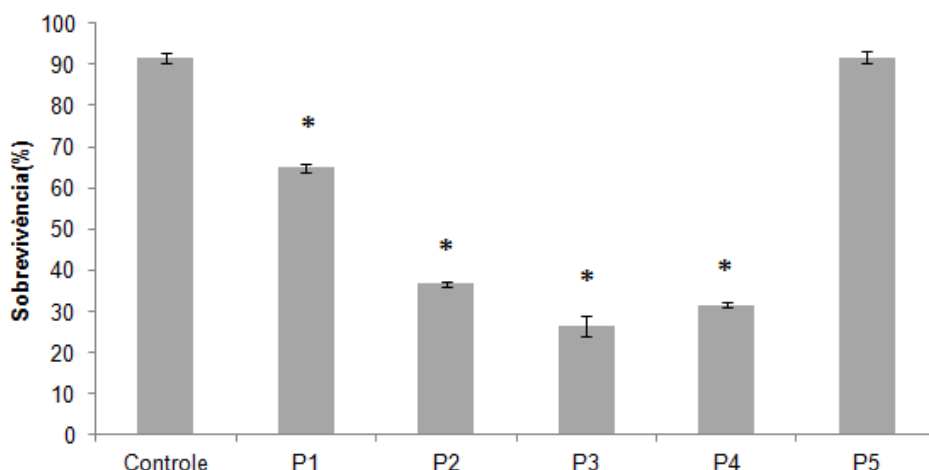


Figura 11: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo *Kalliapseudes schubartii* e sedimentos da Baía da Guanabara. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Sedimento integral, toxicidade aguda - Anomalocardia brasiliiana

Os parâmetros físico-químicos registrados durante a execução do teste estão presentes na tabela 11. As concentrações de amônia não ionizada se mantiveram baixas com exceção do ponto P5 (0,95mg/L) ao final do teste. A temperatura média do teste foi de $24,8 \pm 0,15$ °C, já o oxigênio dissolvido apresentou uma média de $8,4 \pm 0,8$ mg/L, e o pH de $8 \pm 0,19$. Apenas os sedimentos dos pontos P2 e P3 apresentaram toxicidade aguda para esta espécie, com sobrevivência de 77% e 61% respectivamente (Figura 12).

Tabela 11: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com *Anomalocardia brasiliiana*.

Pontos	Sal		OD (mg/L)		pH		Temp. C°		Amônia (mg/L)
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	
P1	31	28	5,8	4,8	8,27	7,96	24,7	25	0,13
P2	31	28	5,9	3,7	8,2	7,69	24,7	25	0,23
P3	28	28	6	4,4	8,02	8,11	24,7	25	0,39
P4	30	28	5,8	5,4	8,38	7,82	24,7	25	0,31
P5	30	27	6,2	4,8	8,25	8,19	24,7	25	0,95
Controle	31	28	5,9	6,2	8,1	8,05	24,7	25	0,34

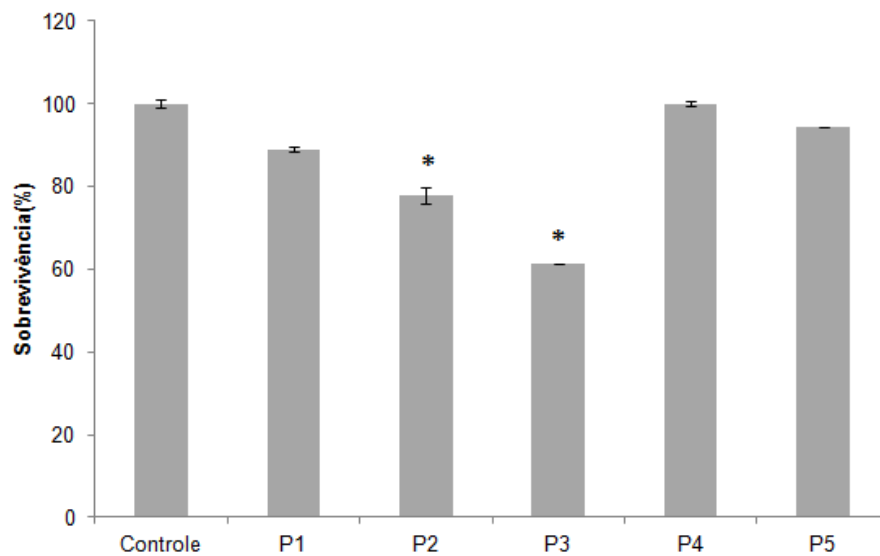


Figura 12: Resultado do teste de toxicidade aguda realizado com o organismo *Anomalocardia brasiliana*. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Tempo de enterramento - Anomalocardia brasiliana

Os sedimentos que induziram taxas de enterramento estatisticamente diferentes da observada no grupo controle foram aqueles coletados em P1, P2 e P3, com uma taxa de 0,05; 0,05 e 0,06 org/min, respectivamente (Figura 14).

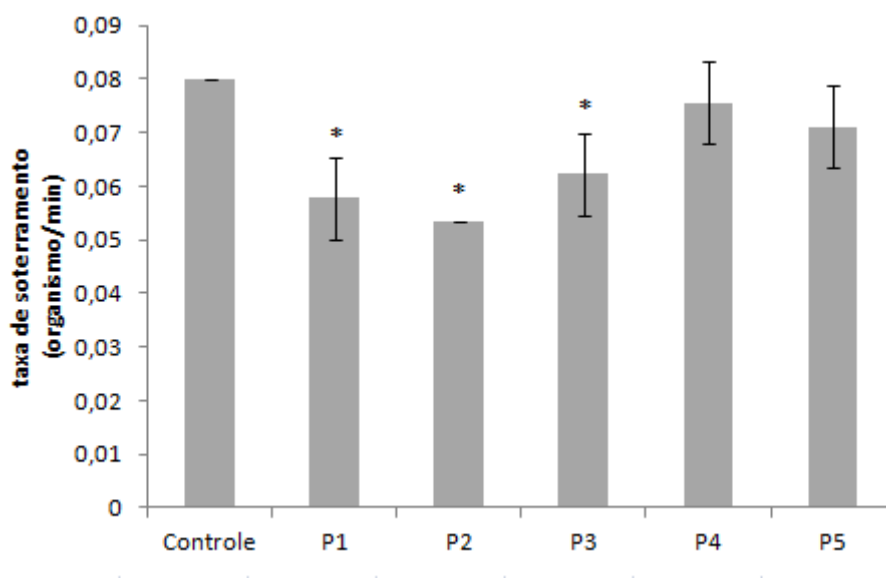


Figura 13: Resultado do teste de taxa de enterramento com o organismo *A. brasiliiana* e sedimentos da Baía da Guanabara. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Sedimento integral, toxicidade crônica - Nitocra sp.

Os parâmetros físico-químicos estão apresentados na Tabela 12. As concentrações de amônia não ionizada foram elevadas nos sedimentos dos pontos P2, P3 e P4 (0,89; 1,29 e 1,20 mg/L respectivamente). O pH médio na água sobrenadante foi de $7,6 \pm 0,4$ já o oxigênio dissolvido teve uma média de $3,38 \pm 1,09$ mg/L. A temperatura foi constante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, mantida pela câmara incubadora.

Todos os sedimentos apresentaram toxicidade, sendo que P3 foi o mais tóxico, apresentando uma média de fecundidade de $3,03 \pm 2,35$, enquanto os organismos expostos ao sedimento controle apresentaram uma taxa de fecundidade média de $34,98 \pm 8,56$ (Figura 13).

Tabela 12: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste com *Nitocra sp.*

Amostras	pH		OD (mg/L)		Sal		Amônia (mg/L)
	inicial	Final	inicial	final	inicial	final	
Controle	7,27	7,64	4,3	5,1	22	23	0,01
P1	7,34	7,45	0,8	3,9	21	20	0,16
P2	7,42	8,2	2,2	3,5	21	22	0,89
P3	7,24	7,98	3,5	3,5	20	20	1,29
P4	7,13	8,38	2,7	3,4	20	20	1,20
P5	7,58	8,25	3,7	4	21	21	<0,07

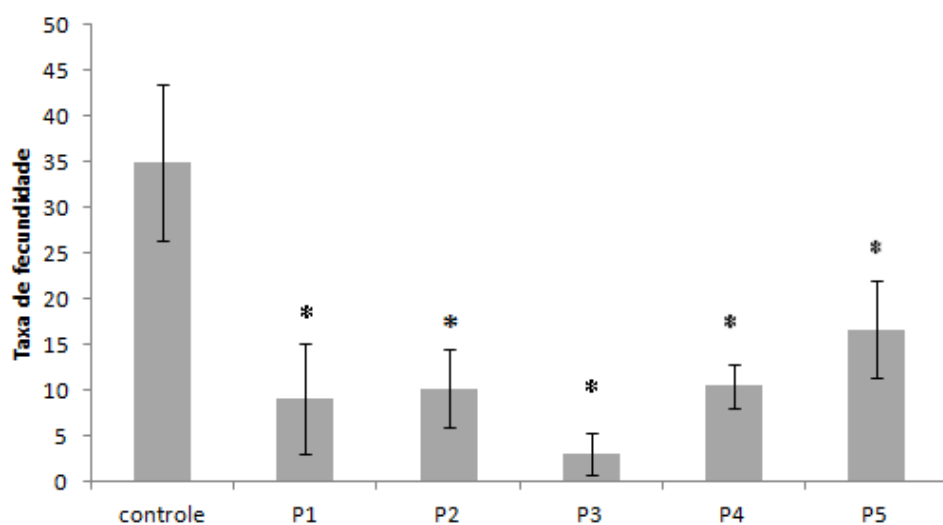


Figura 14: Resultado do teste de toxicidade crônica realizado com o organismo *Nitocra* sp e sedimento da Baía da Guanabara. * (asterisco) Indica a diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Sobrevivência ao ar - *Anomalocardia brasiliana*

Conforme já mencionado, o teste de sobrevivência ao ar foi realizado apenas com o sedimento do ponto P3, o qual havia sido tóxico em todos os testes anteriores. Os organismos expostos ao sedimento de P3 apresentaram um LT_{50} de 6,3 dias, enquanto aqueles mantidos no sedimento controle apresentaram LT_{50} de 11,8 dias. Ou seja, no sedimento do ponto P3, em aproximadamente 6 dias 50% dos organismos morreram enquanto que no controle 50% de letalidade só ocorreu após 11,8 dias, o que representa quase o dobro do valor do P3 (figura 15).

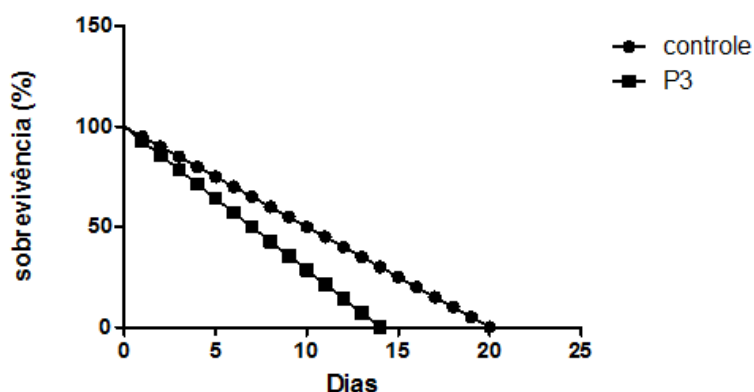


Figura 15: Resultado do teste de sobrevivência ao ar com o bivalve *Anomalocardia brasiliana*, utilizando sedimento coletado na Baía da Guanabara.

Toxicity Identification and Evaluation (TIE)

Amônia - *Ulva lactuca*

Os parâmetros físico-químicos do TIE tratamento com *U. lactuca* estão presentes na Tabela 13.

O resultado da ANOVA de duas vias indicou que a taxa de fecundidade varia entre os pontos e entre os tratamentos (Tabela 14). O teste a posteriori de *Tukey* indicou que os tratamentos *Baseline* e *U. lactuca* apresentaram diferença estatística para os sedimentos de P3 e P4, indicando que a amônia é um contaminante importante nesses pontos (Figura 16).

Tabela 13: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento de *Ulva lactuca*.

	Pontos	Sal		OD		pH		Temp (°C)		Amônia (mg/L)	Remoção amônia (%)
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim		
Baseline	P1	24	24	5,2	3,4	7,02	6,95	25	25	0,67	-
	P2	24	24	4,5	3,1	6,85	6,81	25	25	0,51	-
	P3	23	23	4,7	3,5	7,12	6,59	25	25	1,09	-
	P4	23	23	5,1	2,4	7,04	6,32	25	25	0,92	-
	P5	25	25	5,2	2,3	6,96	6,93	25	25	0,09	-
	Controle	24	24	6,4	5,3	9,9	7,03	25	25	nd	-
Ulva	P1	24	25	6,3	3,9	7,1	7,07	25	25	0,32	52
	P2	24	25	4,5	2,2	7,12	7,16	25	25	0,21	58
	P3	24	24	4,6	3,2	7,07	7,1	25	25	0,48	56
	P4	25	25	4,8	3,7	7,24	7,18	25	25	0,57	38
	P5	25	25	4,9	2,8	7,19	7,16	25	25	0,0462	49
	Controle	24	24	6,01	5,71	7,08	7	25	25	nd	Nd

Tabela 14: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com *Ulva lactuca*.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	49,02	5	9,804	F (5, 24) = 2,057	P = 0,1064
Pontos	1910	5	381,9	F (5, 24) = 80,14	P < 0,0001
Tratamentos	101,6	1	101,6	F (1, 24) = 21,32	P = 0,0001
Residual	114,4	24	4,766		

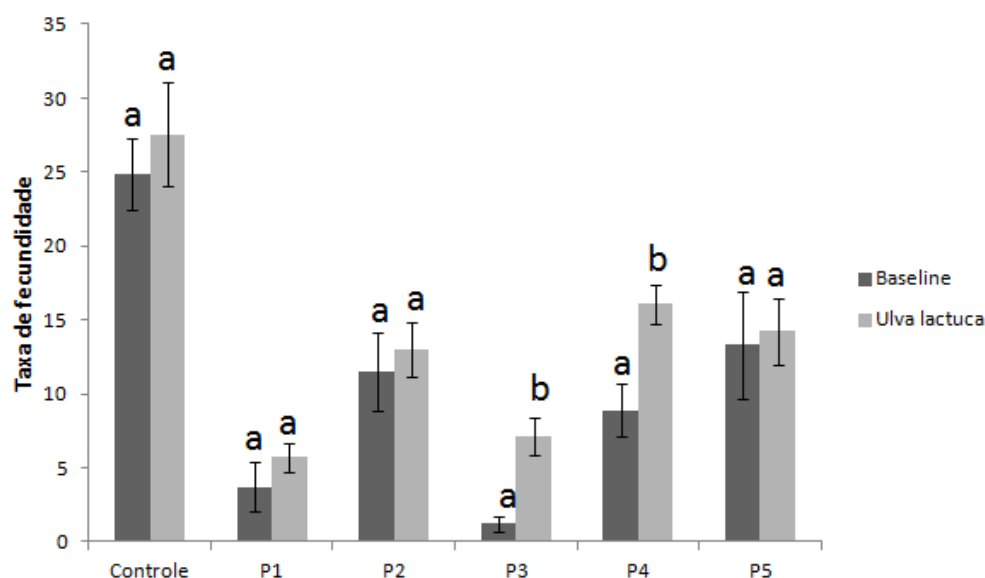


Figura 16: Resultado do teste de TIE com sedimento integral coletado na Baía da Guanabara indicando taxa de fecundidade média do organismo *Nitocra* sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos Baseline e *Ulva lactuca*.

Metais - Reagente de Fenton

Os parâmetros físico-químicos estão presentes na tabela 15.

Tabela 15: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento da Reagente de Fenton.

	Pontos	Sal		OD (mg/L)		pH		Temp °C		Amônia (mg/L)
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Fim
Bseline	P1	20	20	6,64	4,9	7,29	6,91	26	25	0,945
	P2	20	20	5,47	5,19	7,27	7	26	25	0,134
	P3	20	20	5,76	5,02	7,11	6,6	26	25	1,143
	P4	22	22	6,02	6,07	7,09	6,89	26	25	0,853
	P5	20	22	5,07	5,01	6,98	6,85	26	25	0,089
	Controle	20	22	5,27	5,57	7,14	7,06	26	25	Nd
Fenton	P1	18	21	6,26	5,29	7,03	6,95	26	25	1,015
	P2	20	20	6,96	6,34	6,7	7,03	26	25	0,094
	P3	20	20	5,9	5,02	7,02	6,83	26	25	1,045
	P4	21	22	6,09	6,15	6,68	6,95	26	25	0,937
	P5	21	20	5,2	5,07	6,72	6,83	26	25	Nd
	Controle	20	20	5,7	5,69	6,46	6,42	26	25	Nd

O resultado da ANOVA está na Tabela 16. O teste *a posteriori* de Tukey indicou que os sedimentos de P1 e P3 apresentaram diferença entre os tratamentos

Baseline e Fenton, indicando que para esses dois pontos os metais representam uma classe de contaminantes importantes para toxicidade (Figura 17).

Tabela 16: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com a reagente de Fenton.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	169	5	33,8	F (5, 24) = 2,891	P = 0,0351
Pontos	3839	5	767,8	F (5, 24) = 65,67	P < 0,0001
Tratamentos	63,83	1	63,83	F (1, 24) = 5,459	P = 0,0281
Residual	280,6	24	11,69		

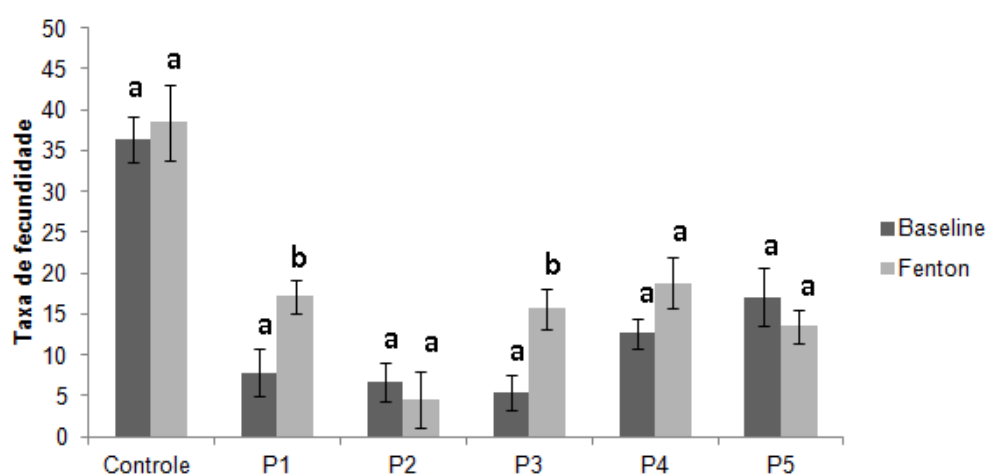


Figura 17: Resultado do teste de TIE com sedimento integral coletado na Baía da Guanabara, indicando taxa de fecundidade média do organismo *Nitocra* sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos *Baseline* e Reagente de Fenton.

Compostos Orgânicos - Carvão de casca de coco

Os parâmetros físico-químicos estão apresentados na tabela 17.

Tabela 17: Parâmetros físico-químicos iniciais e finais medidos durante o teste de TIE com o tratamento de Palha de Coco.

	Pontos	Sal		OD (mg/L)		pH		Temp °C		Amônia (mg/l)
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Fim
<i>Baseline</i>	P1	25	23	6,34	6,05	7,2	6,57	25	25	0,49
	P2	22	22	5,48	5,93	7,62	6,82	25	25	0,223
	P3	23	22	5,19	4,82	7,57	7,02	25	25	0,939
	P4	23	25	5,69	6,4	7,69	6,65	25	25	1,108
	P5	25	22	6,22	5,75	7,54	7,44	25	25	Nd
	Controle	22	23	5,47	5,79	6,07	7,67	25	25	Nd
Carvão de casca de coco	P1	25	22	4,52	5,31	7,57	7,13	25	25	0,346
	P2	25	22	5,02	5,25	7,64	7,91	25	25	0,488
	P3	25	22	5,39	4,51	7,23	7,8	25	25	0,463
	P4	20	20	4,58	4,82	6,55	7,7	25	25	0,612
	P5	22	23	5,46	5,87	7,76	6,82	25	25	Nd
	Controle	20	20	5,43	5,75	6,83	6,04	25	25	Nd

O resultado da ANOVA de duas vias indicou que existe diferença entre os pontos, os tratamentos, e que em ao menos um ponto a taxa de fecundidade é influenciada pela interação entre os pontos e o tratamento (Tabela 18). Na Figura 18 podemos notar que a fecundidade dos organismos expostos aos sedimentos dos pontos P1, P3, P4 e P5 apresentou diferença entre o tratamento da Casca de coco e o *Baseline* ($p>0,05$), indicando que, nesses sedimentos, contaminantes orgânicos foram também responsáveis pela toxicidade, visto que ocorreu um aumento na taxa de fecundidade quando se utilizou o tratamento que é específico para remoção de contaminantes orgânicos (USEPA, 2007)

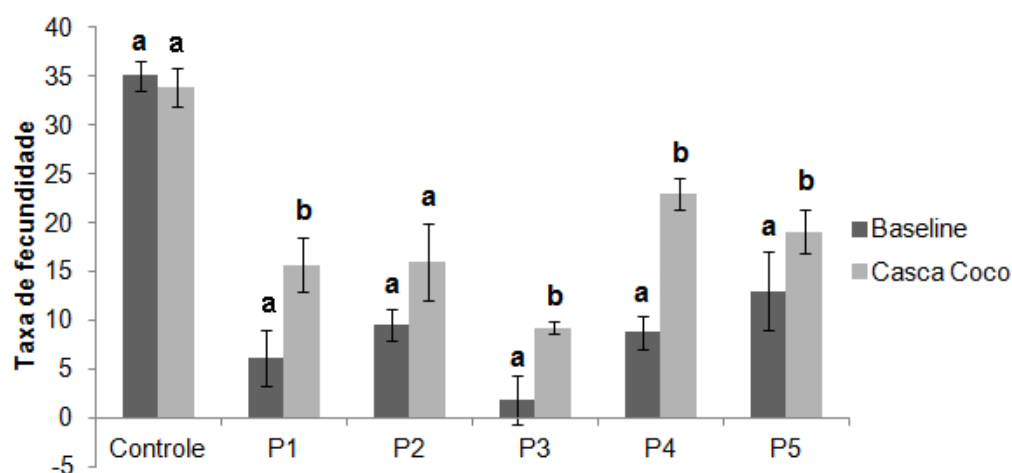


Figura 18: Resultado do teste de TIE com sedimento diluído (50%) da Baía da Guanabara, indicando taxa de fecundidade média do organismo *Nitocra* sp. "a" e "b" indicam diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos *Baseline* e Carvão de casca de coco. Note que em P1, P3, P4 e P5 houve diferença estatística indicando que contaminantes orgânicos interferem na toxicidade.

Tabela 18: Tabela da ANOVA de duas vias referente ao tratamento com Carvão de casca de coco.

ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Interaction	218,1	5	43,61	F (5, 24) = 8,638	P<0,0001
Tratamentos	2931	5	586,1	F (5, 24) = 116,1	P<0,0001
Pontos	444,4	1	444,4	F (1, 24) = 88,03	P<0,0001
Residual	121,2	24	5,049		

Integração dos Dados

A análise de componentes principais (PCA) explicou 90,8% das variâncias nos 3 primeiros eixos (Tabela 19), sendo que o Eixo 1 explicou 35,9% das variâncias e nele encontram-se associados positivamente os testes toxicológicos, tais como de fecundidade com *Nitocra* sp, e de sobrevivência com *T. viscana*, *A. brasiliiana* e *K. schubartii* e negativamente os metais Fe, Mn, Cr, Cu, Ni, Zn além de Lama e matéria orgânica. Já o Eixo 2 explicou 33% das variâncias e agrupou CaCO_3 , Fe e Mn positivamente e negativamente Cr, Cu, Ni, Pb e Zn. O Eixo 3 explicou 21,9% das variâncias, sendo que nele foram associados negativamente Lama, *Nitocra* sp, *T. viscana*, *A. brasiliiana* e positivamente A *K. schubarti* e $\text{NH}_3 - \text{NH}_4$.

Na Figura 19, estão representados os escores dos Eixos, sendo que para o Eixo 1 os pontos que apresentaram escores positivos foram P1, P2 e P5 e escores negativos P3 e P4. Para o Eixo 2 os pontos que apresentaram escores positivos

foram P1, P2 P3 e P5, e negativos P4. Para o Eixo 3, os pontos que apresentaram escores positivos foram P1, P2 e P3, e negativos, P4 e P5.

Tabela 19: Resultado da análise de componentes principais para dados geoquímicos e toxicidade. As variáveis com cargas $\geq \pm 0,45$ foram destacadas em vermelho.

Variáveis	% da variância explicada		
	35,9% Eixo 1	33,0% Eixo 2	21,9% Eixo 3
Lama	-0,49	-0,25	-0,57
CaCO ₃	-0,38	0,92	0,01
MO	-0,93	0,36	-0,02
<i>Nitocra sp</i>	0,56	0,27	-0,78
<i>T. viscana</i>	0,54	-0,18	-0,75
<i>A. brasiliiana</i>	0,46	-0,18	-0,79
<i>K. schubartii</i>	0,64	-0,27	0,55
NH ₃ -NH ₄	-0,79	-0,25	0,57
Fe	-0,65	0,60	-0,41
Mn	-0,81	0,50	-0,31
Cr	-0,73	-0,54	-0,30
Cu	-0,24	-0,86	0,05
Ni	-0,54	-0,65	-0,44
Pb	0,07	-0,97	-0,02
Zn	-0,59	-0,80	-0,06

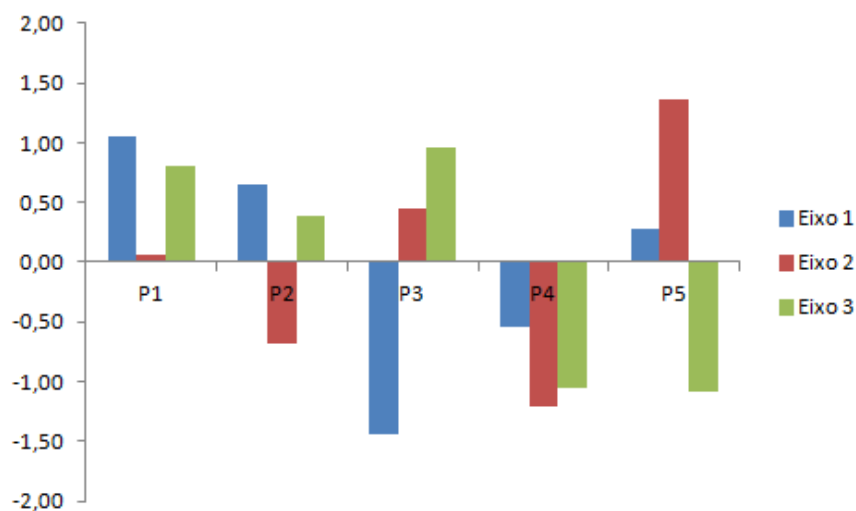


Figura 19: Escores dos eixos obtidos para cada ponto.

5 DISCUSSÃO

Comparando-se o perfil granulométrico dos sedimentos coletados na Baía de Guanabara e do controle, percebe-se que o controle é predominantemente arenoso (~79%). Cabe aqui destacar que os organismos escolhidos para os bioensaios não devem ser fortemente influenciados pela granulometria de sedimentos naturais durante os testes ecotoxicológicos. Por exemplo, *K. schubartii* e *A. brasiliiana* não exibiram efeitos negativos quando expostas a sedimentos lamosos (>90% silte e argila) no presente estudo, como aqueles coletados em P4 e P5. Segundo Marconato (2006), Fenili (2012) e trabalhos posteriores (CAMPOS *et al.*, 2015) o copédo *Nitocra* sp também não sofre interferência da granulometria durante os bioensaios. Já para o anfípodo *T. viscana*, alguns autores afirmam que os organismos são afetados em sedimentos com uma fração de silte e argila superior a 60% (BERTOLETTI, 2011), dados contrastantes com os encontrados por Campos *et al.* (2015) que em seu trabalho obtiveram sobrevivências de anfípodos superiores a 85% em sedimentos com mais de 80% de silte e argila.

Segundo Neto *et al.*, (2006) o perfil sedimentológico da Baía de Guanabara é influenciado tanto pelo mar quanto pelo continente, tornando o sedimento uma mistura de minerais e partículas orgânicas, que irão variar de acordo com a proximidade do mar ou da foz dos rios. Próximo à entrada da baía o sedimento é caracterizado por ser mais grosseiro, já que esta é uma região de maior hidrodinamismo, estando sujeito à influência das ondas e correntes de marés. Na região intermediária da baía, o sedimento é areno-lamoso, característico de uma zona de mistura. A região interna da Baía apresenta baixa energia, caracterizando-se como uma região deposicional, com acúmulo de sedimentos finos. Os dados obtidos neste trabalho corroboram as informações da literatura, pois na região interna da Baía (pontos P3 a P5) os sedimentos foram lamosos, enquanto que em P1 e P2, na região mediana da Baía, as texturas foram areno-lamosas.

Os rios que desembocam próximo aos pontos P3 e P4 (Rio Iguaçu e Meriti, respectivamente) atravessam áreas altamente urbanizadas recebendo variados tipos de efluentes sem tratamento adequado (SOARES-GOMES *et al.*, 2016). Consequentemente os sedimentos coletados nestes dois pontos apresentaram elevadas concentrações de matéria orgânica (18,25 e 8,83% respectivamente). É importante ainda ressaltar que estes sedimentos possuíam uma cor preta

característica de zona anóxica, além de conterem detritos de lixo e emitirem um odor forte e característico de esgoto (Figura 20).



Figura 20: Comparação entre o sedimento controle (esquerda) e o sedimento do P3 (direita).

Segundo Godoy *et al.*, (1997) a contaminação por metais na Baía de Guanabara está relacionada com o estabelecimento de indústrias e sua intensificação, que ocorreu em meados dos anos 1950. Desde então, pesquisadores vêm reportando eventos de contaminação desta natureza.

Como mencionado anteriormente, o sedimento de P4 foi considerado o mais contaminado por metais (maiores valores de fator de enriquecimento total R e de Índice Geoquímico HighQ), sendo que a provável origem desses elementos é antrópica ($FE > 1$ para todos os metais). O ponto P4 está localizado na região de foz do rio Meriti, que recebe grande quantidade de esgoto in natura e drena uma vasta região urbana (SOARES-GOMES *et al.*, 2016) e industrial. Assim, possivelmente a principal fonte de metais relaciona-se com esgotos domésticos e águas de drenagem urbana e em menor escala pelos efluentes industriais. Maranhão *et al.*, (2015) relatam que os esgotos são reconhecidos por liberarem no ambiente uma grande variedade de xenobióticos, tais como produtos de higiene e cuidados pessoal, fármacos, surfactantes, HPA, metais, entre outros.

Tommasi *et al.*, (1987) relatam que o esgoto não tratado lançado na região representa uma importante fonte de contaminação. Os mesmos autores pontuam que, no Brasil, o esgoto urbano é considerado a principal fonte de poluição em ambientes marinhos e estuarinos, sendo que no ambiente marinho, o principal efeito observado é alteração física da textura do sedimento nas proximidades do local de lançamento, devido à entrada de sedimentos finos (ABESSA *et al.*, 2014). Além disso, o enriquecimento orgânico é outra característica de ambientes que apresentam este tipo de contaminação, uma vez que ocorre o aumento nos níveis de nutrientes, matéria orgânica e amônia (BELZUNCE *et al.*, 2001). Tais dados corroboram com o presente estudo, visto que P4 apresentou maiores quantidades de finos, e de matéria orgânica.

Da mesma forma, as elevadas concentrações de metais encontradas neste ponto corroboram com os estudos de Pereira *et al.*, (2007), que afirmam que além dos efluentes industriais uma outra importante fonte de metais são as águas de drenagem urbana, de modo que no ambiente urbano, sedimento e poeira podem transportar e estocar contaminantes, como por exemplo, os metais. Assim, a drenagem urbana pode ser considerada uma importante fonte de contaminação por metais do ambiente estuarino da Baía de Guanabara. Ainda em seu estudo, Pereira *et al.*, (2007) encontraram elevadas concentrações de Cr (>475 ppm) Zn (>1000ppm), Ni (>150ppm), Pb (450ppm) e Cu (250ppm) nas águas de drenagem urbanas na região da Baía de Guanabara. Note que Zn e Pb estão entre os metais mais abundantes encontrados por Pereira *et al.* (2007) nas águas assim como no presente trabalho no sedimento (Zn: 536,5 e Pb: 87,57 ppm).

Os pontos P2 e P1, os quais foram respectivamente o 2º e 3º ponto com maiores concentrações de metais nos sedimentos, apresentaram FE superior a 1 apenas para Pb, Zn e Cu, indicando que tais contaminantes possuem origem antrópica. Além disso, foram classificados segundo seus elevados valores de R (>3) e Índices Geoquímicos como altamente contaminados. P2 e P1 são pontos localizados próximos a regiões portuárias, Porto de Niterói e Porto do Rio de Janeiro respectivamente, além desses dois grandes portos estas regiões contam com inúmeras marinas e descarga de efluentes urbanos (CHRISTENSEN *et al.*, 2010). Tais resultados são corroborados pelos trabalhos de Perin *et al.* (1997), e Neto *et al.* (2006) que encontraram elevadas concentrações de metais nos sedimentos nas

regiões portuárias da Baía de Guanabara (Pb: 177,6 ppm; Cu: 138,8 ppm; Zn: 835,2 ppm). As regiões portuárias constituem outra fonte de contaminação importante devido ao transporte, em grandes quantidades, de matérias primas que podem conter metais oriundos de tintas, baterias, fertilizantes, pesticidas ou o metal propriamente dito (JÄRUP, 2003). Os metais também podem estar presentes em produtos utilizados para a manutenção das embarcações. Este é o caso do Cd presente em tintas anti-corrosivas, aplicadas sobre o casco de embarcações e em partes específicas do barco para se evitar a ferrugem e oxidação do metal. Já o Cu e o Zn são encontrados em tintas anti-incrustantes (SINGH & TURNER, 2009). Os portos e embarcações ainda podem ser fonte de contaminação de Pb, visto que este é um metal muito utilizado como aditivo de combustíveis ou em pigmentos de tintas.

No sedimento de P3, também houve indicação de que a origem do Pb, Zn, Cu seja principalmente antrópica ($FE > 1$). Porém esse sedimento foi classificado como pouco contaminado, pelo seu valor de $1 < R < 2$, e pelo Índice geoquímico (HighQ), que classificou este ponto como tendo um nível de contaminação de médio a baixo. O P3 localiza-se na região de foz do Rio Iguaçu, rio que drena uma região altamente industrializada e, além disso, possui descarga de esgotos domésticos. Estes dados divergem dos encontrados por Neto *et al.* (2006) que encontraram elevadas concentrações de metais na região próxima a foz do Rio Iguaçu, em seu trabalho foram vistas concentrações de Zn que variaram de 200 - 300 ppm, Cu variando de 80-100ppm e concentrações de Cr superiores a 300 ppm.

O sedimento de P5 apresentou um FE inferior a 1 para todos os metais, indicando uma contribuição natural para esses elementos, além disso o reduzido valor de R (< 1) classificou este ponto como não contaminado. Por sua vez, o Índice Geoquímico classificou este ponto como tendo um nível de contaminação de médio a baixo. O ponto P5 está localizado na região de Guapimirim, uma área de proteção ambiental, sendo mais distante das áreas fortemente urbanizadas. O atual trabalho corrobora com os achados de Abreu *et al.*, (2016), e Neto *et al.*, (2006) para os quais esta região é a que apresenta os menores níveis de contaminação dentro da Baía de Guanabara. Desse modo, mesmo sabendo da associação de metais com sedimentos finos e matéria orgânica, a proximidade com as fontes poluidoras se torna um fator de muito mais relevante no caso da Baía de Guanabara, com as áreas mais contaminadas estando localizadas próximas das fontes. Observa-se que

a região do P5 apresenta um perfil sedimentológico com granulometria e teores de matéria orgânica muito semelhante aos sedimentos que foram classificados como moderadamente e altamente contaminados (P3 e P4, respectivamente), demonstrando mais uma vez que a proximidade com fontes poluidoras é mais importante que o perfil granulométrico para o cenário observado no presente estudo.

O Igeo demonstrou que de modo geral os principais metais responsáveis pela contaminação na Baía de Guanabara são Pb, Zn e Cu. Tais resultados são corroborados pelo trabalho de Abreu *et al.* (2016) no qual se observou que as maiores concentrações de metais encontradas na região eram as de Pb, e Zn.

O desenvolvimento e implementação de guias de qualidade de sedimento (SQG) refletem a importância que os sedimentos contaminados possuem como fontes de efeitos adversos para o ambiente (NEMR *et al.*, 2016). Segundo Scrimshaw *et al.*, (2007) como seu próprio nome sugere, os SQG devem ser utilizados como guias, e não como indicadores definitivos de quando ou não ocorrerá o dano ambiental. Os SQG apresentam 3 níveis:

- 1) Concentrações abaixo das quais os efeitos adversos são improváveis. No presente estudo utilizando-se os SQG propostos pela Agência ambiental canadense e por Choueri *et al* (2009), seriam concentrações a baixo de ISQG, ou *Low*, respectivamente.
- 2) Concentrações acima das quais os efeitos adversos são prováveis. No presente estudo seriam concentrações acima de PEL ou *High*.
- 3) Concentrações intermediárias, onde o efeito adverso pode ou não ocorrer. No presente estudo seriam as concentrações com valores entre ISQG e PEL ou entre *Low* e *High*.

Segundo Souza *et al.* (2016), os guias de qualidade de sedimento internacionais devem ser utilizados com cautela para os ambientes tropicais brasileiros, uma vez que podem não representar a melhor base de comparação devido as grandes diferenças encontradas nos aspectos ambientais em diferentes regiões. Souza *et al.* (2016) ainda afirmam que possivelmente os SQG para climas tropicais devem possuir concentrações inferiores do que os de climas temperados (visto que as taxas metabólicas de organismos de clima tropical devem ser maiores). Além disso, Buruaem *et al.*, (2012) e Choueri *et al.*, 2009, mostram que SQG sítio-específicas são muito mais confiáveis, pois leva-se em conta as peculiaridades

regionais que podem interferir na toxicidade de substâncias, como por exemplo temperatura, precipitação, regime de marés, etc.

Desse modo para o presente estudo além dos SQG canadenses, optou-se por utilizar os valores desenvolvidos por Choueri *et al.* (2009) para a região do Estuário de Santos, que dentre os SQG disponíveis na literatura é a região que mais se aproxima da Baía de Guanabara. Pode-se observar que de modo geral esses valores foram mais restritivos que os canadenses. De modo que para Pb, todos os sedimentos, com exceção do P5, foram classificados como tendo alta probabilidade de serem tóxicos. Para Zn as amostras de P1, P2, P3 e P4 foram classificadas como tendo alta probabilidade de serem tóxicas. Para Cu os sedimentos de P2 e P4 foram os únicos classificados como tendo alta probabilidade de efeito tóxico. Para Cr o único sedimento a entrar nesta categoria foi o coletado em P4. Já para o Ni, os sedimentos de P1 e P4 apresentaram-se com concentrações acima de *High* indicando alta probabilidade de causarem toxicidade, enquanto P2 e P3 apresentaram concentrações superiores a *Low* indicando um possível efeito tóxico.

É importante ressaltar que os SQG não determinam poluição. Um contaminante é uma substância presente em uma determinada concentração onde naturalmente não se encontraria; já um poluente é um contaminante que causa efeito biológico adverso (Scrimshaw *et al.*, 2007; Chapman *et al.*, 2002a). Desse modo todo poluente é um contaminante, mas nem todo contaminante é um poluente. Segundo Scrimshaw *et al.*, (2007) os SQG nos permitem avaliar a contaminação com base na magnitude da comparação dos valores orientadores. Logo, no máximo eles nos permitem inferir uma possível poluição a partir dos níveis de contaminação. Deste modo, é aconselhável que em ERA os SQG sejam sempre realizados dentro de uma abordagem de múltiplas linhas de evidência, como neste trabalho (Chapman *et al.*, 2002b), visto que sozinho os SQG são inconclusivos para se avaliar poluição/efeito.

Os testes de toxicidade mostraram que os sedimentos de todos os pontos apresentaram toxicidade ao menos uma vez, sendo que os sedimentos dos pontos P2 e P3 apresentaram toxicidade em todos os ensaios, seguidos do sedimento do ponto P1, que só não apresentou toxicidade no teste de sobrevivência com *A. brasiliensis*. A seguir pode ser citado o sedimento do ponto P4 que apresentou toxicidade em três testes. Por último o ponto P5, cujo sedimento apresentou

toxicidade em dois testes. Na figura 21 podemos ver a matriz de integração dos testes de toxicidade agudos e crônicos, o qual nos possibilitou a obtenção de uma resposta qualitativa e única dos testes toxicológicos como um todo, denominada "Classificação da toxicidade". Nesta classificação os Pontos P1, P2, P3 e P4 foram classificados como muito tóxicos, enquanto P5 como tóxico.

Teste de toxicidade		Pontos					
		P1	P2	P3	P4	P5	
TA	<i>T. viscana</i>	Muito Tóxico	Tóxico	Muito Tóxico	Tóxico	Tóxico	Classificação individual
	<i>K. schubartii</i>	Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Não Tóxico	
	<i>A. brasiliiana</i>	Não Tóxico	Tóxico	Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	
	<i>A. brasiliiana</i> *	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Não Tóxico	Não Tóxico	
	TA - combinação	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Tóxico	Potencialmente Tóxico	Classificação combinada
Classificação da Toxicidade		Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Tóxico	
TC	TC - combinação	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Classificação individual
	<i>Nitocra sp</i>	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	

 = Não Tóxico	 = Tóxico
 = Potencialmente Tóxico	 = Muito Tóxico

Figura 21: Matriz integrando os testes de toxicidade aguda (*T. viscana*, *A. brasiliiana* e *K. schubartii*) e crônica (*Nitocra sp.*) realizados com sedimentos da Baía da Guanabara. Resultando na Classificação da toxicidade, uma única resposta qualitativa dos testes de toxicidade. "TA - combinação" se refere à combinação dos testes de toxicidade aguda. "TC - combinação" se refere à combinação dos testes de toxicidade crônica. *A. brasiliiana** refere ao teste de enterramento. O critério de classificação pode ser encontrado na figura 05.

Os resultados nos mostram dois principais *hot-spots* de toxicidade, localizados na região noroeste da Baía de Guanabara, próximo aos rios poluídos e as áreas industriais e nas regiões portuárias do Rio de Janeiro e de Niterói. Mesmo o P5, localizado dentro de uma Área de Preservação Ambiental, apresentou toxicidade, possivelmente causada pelas atividades poluidoras presentes nas áreas adjacentes. A toxicidade generalizada nos sedimentos é influenciada pela baixa energia e elevado tempo médio de renovação das águas (50% da água renovada

em 11,4 dias em média) fazendo com que a região possua uma grande capacidade de armazenar contaminantes (SOARES-GOMES *et al.*, 2016; NETO *et al.*, 2006).

Soares-Gomes *et al.* (2016) e Maranhão *et al.* (2010) também identificaram as regiões portuárias e noroeste da Baía de Guanabara como *hot-spots* de contaminação e toxicidade, respectivamente. Maranhão *et al.* (2010) concluíram, através de ensaios com elutriato, que os sedimentos da Baía de Guanabara possuem a capacidade de remobilizar contaminantes para coluna d'água, e assim como o presente estudo encontraram elevadas concentrações de amônia como um dos poluentes relacionados com a toxicidade.

As regiões estuarinas são caracterizadas por apresentarem concentrações elevadas de amônia de origem natural (BATLEY & SIMPSON, 2009), porém é improvável que as concentrações de amônia encontradas nos sedimentos dos pontos P3 e P4 sejam naturais, visto que o sedimento do Ponto P5 que possui uma quantidade equivalente de matéria orgânica, e que é uma região de manguezal dentro de uma área de proteção ambiental, apresenta concentrações de amônia bem menores que P3 e P4 (que não possuem mais a vegetação natural) (Figura 22).

Além disso, inúmeros autores afirmam que existe um *input* de nutrientes e matéria orgânica considerável de origem antrópica para a Baía de Guanabara, por meio dos rios contaminados que deságuam na região (WAGENER, 1995; VILELA *et al.*, 2003; SOARES-GOMES *et al.*, 2016). Sendo assim, em muitos casos, como neste específico da Baía de Guanabara, a amônia não deve ser tratada como um interferente nos testes ecotoxicológicos. Se o intuito do estudo é uma avaliação da qualidade ambiental ou algo do gênero, ela deve ser tratada como um estressor, visto que tem potencial para causar efeitos adversos em organismos, podendo então amplificar os efeitos causados por outros agentes estressores, como os metais. Além disso, existem outros contaminantes que podem estar influenciando a toxicidade vista nos bioensaios. Assim torna-se necessário avaliá-los e discuti-los para que se estabeleça uma relação de causa-efeito. Como já mencionado tal relação de causa e efeito é um aspecto chave dentro de um estudo de ERA. Sendo assim, numa ERA, é ideal que todos os estressores e fatores que afetem as espécies e/ou ecossistemas sejam identificados e entendidos a fim de se compreender as relações de causa-efeito entre eles, o que é fundamental para

qualquer tomada de decisão durante o gerenciamento da região (BURTON *et al.*, 2002; BURTON & JOHNSTON, 2010).

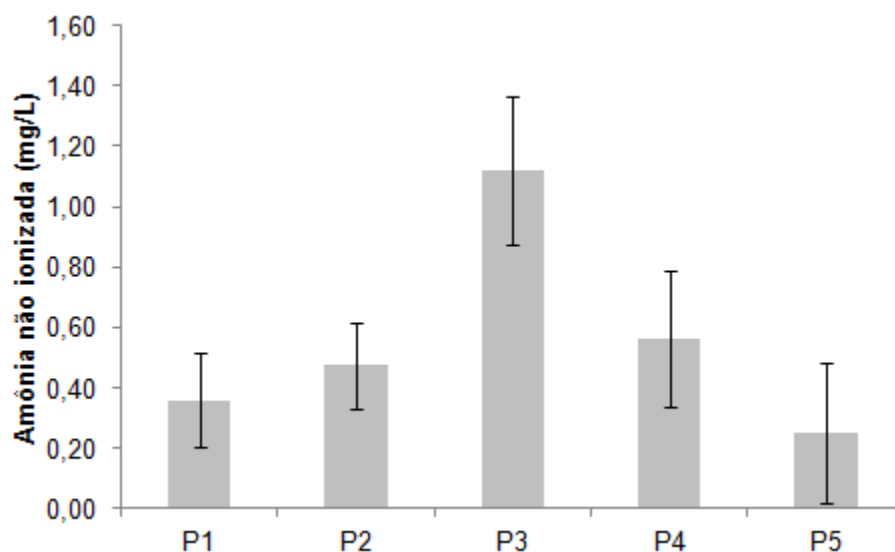


Figura 22: Concentração de amônia não ionizada média, medida durante os bioensaios.

Os resultados de TIE confirmaram que a toxicidade dos sedimentos da Baía de Guanabara é influenciada pelas três principais classes de contaminantes testadas, amônia, metais e compostos orgânicos.

Os resultados mostraram que os pontos que apresentaram a amônia como poluente representativo foram P3 e P4, isto se deve às grandes quantidades de nutrientes e esgoto não tratado que chegam à região pelos rios Meriti e Iguaçu. Outras importantes fontes de amônia presentes na região são os efluentes industriais, e as águas que drenam regiões com atividades de agricultura. Muitas indústrias utilizam amônia como matéria prima para produção de inúmeros bens, tais como fibras, (nylon), plásticos, materiais de limpeza, e até mesmo explosivos (BOULAMANTI & MOYA, 2016; HENDERSON & SAARI-NORDHAUS, 1992; ANDERSON *et al.*, 2003). Segundo Soares (2010), as principais indústrias presentes na Baía de Guanabara são dos ramos Químico, Alimentício, Têxtil, Metalúrgico, Petroquímico, e Farmacêutico; o mesmo autor afirma que cerca de 20% da carga orgânica é oriunda da atividade industrial na região.

Com relação às atividades de agricultura, embora sua contribuição para contaminação de amônia comparada com a carga oriunda de atividades industriais e efluentes domésticos seja bem menor, é relevante destacar que a Bacia Hidrográfica na qual a Baía de Guanabara está inserida, drena a região do cinturão verde do Rio

de Janeiro, e nessa região a amônia é utilizada como fertilizante, nas formas de sulfato de amônio, nitrato de amônio, ureia e fosfato de amônio (ANDERSON *et al.*, 2003; SOARES-GOMES *et al.*, 2016), o que caracteriza as águas de drenagem da agricultura como uma importante fonte de contaminação de amônia.

Além disso, o tratamento com *U. lactuca* foi eficiente na remoção da amônia não ionizada, comparando-se as concentrações finais no *Baseline* com o tratamento utilizando *U. lactuca*, nota-se uma redução média da amônia não ionizada de $53,9 \pm 6,3\%$. Tais resultados corroboram com Pelletier (2001), que em seu trabalho avalia a eficiência da macroalga *U. lactuca* em testes de TIE com sedimento integral, o qual constatou uma redução de até 62% da amônia não ionizada num período de 24h. Além disso, neste trabalho os autores ainda confirmam que a alga não interfere na concentração de metais e de compostos orgânicos, tornando assim este tratamento efetivo para remoção de amônia na primeira fase do TIE em sedimento integral.

Os sedimentos que apresentaram os metais como poluente representativo foram os coletados nos pontos P1 e P3, sendo que no sedimento de P4, embora não tenha havido diferença significativa entre o *Baseline* e o Tratamento com Reagente de Fenton, observou-se um aumento na taxa de fecundidade de 33%, ou seja, no tratamento onde os metais foram mobilizados houve um aumento na taxa de fecundidade de 33%.

Com relação ao Ponto P2, o TIE apontou que os metais não influenciam na toxicidade do sedimento. Contudo sabe-se que este sedimento encontra-se contaminado com metais, como pode ser visto na Tabela 5 (P2 foi o 2º sedimento com maiores concentrações de metais). Tais dados evidenciam a importância de se realizar, de forma integrada, experimentos de toxicidade e análises químicas.

Temos que os principais ligantes dos metais são os óxidos e hidróxidos de Fe e Mn, como por exemplo, o MnO_2 e Fe_2O_3 , argilas, sulfetos e matéria orgânica (ácido húmico), e tais ligações são mediadas pelo pH, potencial redox e oxigênio dissolvido (OD). Dessa forma, os sedimentos com elevado OD, vão apresentar os óxidos e hidróxidos de Mn e Fe como os principais ligantes (PERIN *et al.*, 1997). Contudo o sedimento da Baía de Guanabara é anóxico, o que resulta uma forte redução dos sulfetos orgânicos produzindo altos níveis de Sulfeto de hidrogênio, que em concentrações elevadas mudam o equilíbrio de adsorção dos metais com Mn, Fe,

MO e Argila, fazendo com que os metais se soltem destes para se ligarem aos sulfetos (PEREIRA *et al.*, 2007). Assim, grande parte dos metais presentes nos sedimentos anóxicos deve apresentar-se quelada e indisponível para muitos organismos da infauna (como observado em P2). Porém, mesmo não disponíveis na maior parte do tempo, eles representam uma ameaça ao ambiente, pois sempre que o sedimento é revolvido ou sofre algum distúrbio o metal pode se tornar mais solúvel e ser incorporado pela biota (PERIN *et al.*, 1997). Além disso, organismos bentônicos comedores de depósito, filtradores, detritívoros ou que forrageiem o sedimento podem se expor a estes contaminantes através da via alimentar (WANG *et al.*, 1999; WANG & FISHER, 1999).

Os sedimentos que apresentaram os orgânicos como poluentes que interferiram na toxicidade foram os coletados em P1, P3 e P4. A contaminação por hidrocarbonetos de petróleo já é bem documentada na Baía de Guanabara. Silva *et al.*, (2007) encontraram hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na Baía de Guanabara, em concentrações variando de 77 a 7751 µg/Kg em peso seco nos sedimentos e 1592 ng/L em amostras de água na região noroeste (na área do P3 do presente trabalho), sendo que a maioria das amostras de sedimento foi considerada como altamente contaminada. Christensen *et al.*, (2010) encontraram elevadas concentrações de HPA pirogênicos na região do Porto do Rio de Janeiro, HPA petrogênicos em Iguaçu, e HPA de baixo peso molecular, característico de combustíveis, como por exemplo gasolina, em Meriti. A presença desse tipo de HPA em abundância na região de Meriti corrobora a hipótese de que a principal fonte de contaminantes dessa região é a água de drenagem urbana.

Além dos contaminantes orgânicos clássicos tais como os HPA, PCB e surfactantes, uma nova classe de substâncias químicas vem causando preocupação: são os contaminantes emergentes, substâncias presentes em produtos de higiene e cuidado pessoal, pesticidas e fármacos. Essas substâncias vêm sendo frequentemente detectadas em águas de drenagem urbana e esgotos doméstico de modo geral, em concentrações que variam de µg.L⁻¹ a ng.L⁻¹. Como os atuais processos de tratamento de efluentes são insuficientes para eliminar completamente essas substâncias, ocorre um lançamento contínuo no ambiente, levando a uma exposição crônica. Além disso, como são substâncias desenvolvidas para interagir com sistemas biológicos, elas podem causar efeitos tóxicos em

organismos não alvo (AGUIRRE-MARTÍNEZ *et al.*, 2015; CYCLE *et al.*, 2007; GROS *et al.*, 2012). Mesmo ainda não existindo estudos desta classe de contaminantes para a Baía de Guanabara, levando em consideração o tamanho da mancha demográfica que circunda a Baía de Guanabara, a qual abriga mais de 8 milhões de habitantes, sendo que mais de 50% dessa população não contam com tratamento de esgoto doméstico, sendo que este é lançado *in natura* na baía (CEDAE, 2014), a contaminação por compostos emergentes deve ser considerada na região. De todo modo, os dados do presente estudo indicam a necessidade da realização de um diagnóstico da presença de contaminantes orgânicos emergentes na Baía da Guanabara, de modo a ser verificar sua presença, distribuição, concentrações ambientais e ainda identificar os eventuais *hot-spots* para esses compostos.

Além disso, a contaminação no sedimento pode alterar a resistência de organismos à dessecação, um fator chave para sobrevivência de organismos bentônicos que habitam as zonas de maré, os quais ficam expostos por longos períodos de tempo ao ar. No presente estudo, o teste de sobrevivência ao ar indicou que os organismos expostos ao sedimento controle sobreviveram o dobro de tempo, apresentando uma LT_{50} duas vezes maior do que a observada nos bivalves expostos ao sedimento do P3. Segundo Matozzo *et al.* (2012) durante o período de exposição ao ar, os bivalves estão com seu metabolismo sobre condições anaeróbicas, e o glicogênio representa a principal fonte de energia. Bivalves expostos a estressores (sedimentos contaminados e tóxicos) mostram um aumento na taxa metabólica de modo que necessitam e gastam mais energia, logo quando expostos ao ar sobrevivem por menos tempos, visto que suas reservas energéticas são exauridas mais rapidamente.

Integração dos Dados

A análise de componentes principais (PCA) de modo geral revelou associação negativa entre a toxicidade e as concentrações de lama, metais e amônia, e agrupou os metais Fe e Mn separados dos demais. Os três primeiros fatores explicaram 90,9% da variância total (Tabela 19).

O Eixo 1 mostrou uma associação positiva entre a toxicidade e os metais Fe, Mn, Cr, Ni e Zn, amônia e lama, sugerindo que essas variáveis interferem na

toxicidade, de modo que quanto maiores suas concentrações, mais fortes são os efeitos tóxicos, entendendo-se por efeito tóxicos a redução na taxa de fecundidade de *Nitocra* sp e na sobrevivência de *T. viscana*, *A. brasiliiana*, e *K. schurbartii*. Tais dados corroboram com o resultado do TIE que indicou que os metais e a amônia constituem grupos de contaminantes responsáveis pela toxicidade destas amostras. A associação positiva entre metais, lama e matéria orgânica já era esperada. Segundo Abreu *et al.*, (2016) o tamanho do grão, teor de matéria orgânica e carbonato de cálcio, são características importantes que atuam controlando a biodisponibilidade e concentração dos metais. As frações finas do sedimento tendem a ser mais “reativas”, quando comparadas com as frações grosseiras, pois apresentam uma maior área de superfície de contato, conseqüentemente maior área para adsorção e interações iônicas. Além do mais, a matéria orgânica associa-se com essa fração fina. Assim, além da retenção de contaminantes metálicos, pode ocorrer a formação de complexos organometálicos cuja toxicidade é desconhecida (RIBEIRO *et al.*, 2013; ABREU *et al.*, 2016).

O Eixo 2 agrupou os metais Cr, Cu, Ni, Pb e Zn (correlações negativas) em oposição ao Fe, CaCO₃ e Mn (correlações positivas). Segundo Lin *et al.*, (2016) o Fe e o Mn são elementos presentes na formação das rochas e são encontrados naturalmente nos grãos de sedimento, sendo raramente influenciados por atividades antrópicas; por outro lado o carbonato de cálcio é um indicador da influência marinham geralmente não relacionado com atividades humanas. Assim podemos interpretar o resultado obtido no Eixo 2 como indicativo das origens dos elementos ou substâncias analisadas, sendo Mn, CaCO₃ e Fe como tendo uma origem natural, e Cr, Cu, Ni, Pb e Zn tendo uma origem antrópica. Tal fato é claramente visto no sedimento do ponto P5, que é o mais distante das fontes poluidoras e apresentou as menores concentrações de Cr, Cu, Ni, Pb e Zn, porém as maiores concentrações de Fe e Mn.

O Eixo 3 explicou apenas 21,9% da variância total; nele podemos observar uma associação negativa entre amônia e toxicidade. Já a associação entre Lama e toxicidade sobre *Nitocra* sp, *T. viscana* e *A. brasiliiana* sugere que sedimentos mais lamosos teriam melhores condições, o que pode ser interpretado como um artefato matemático. Como pode ser visto, as correlações de Pearson para estas variáveis apresentam baixos valores de *r*, indicando a inexistência de relação entre elas

(Lama x *Nitocra* sp, R = 0,18; Lama x *T. viscana*, R = 0,41; lama x *A. brasiliiana*, R = 0,08).

Na Tabela 20, podemos observar uma integração qualitativa dos dados de toxicidade obtidos através da obtenção da "Classificação da toxicidade" (Figura 21) e dos índices, fator de enriquecimento total (R) e índice geoquímico (HighQ). Nela podemos observar que os sedimentos dos pontos P1, P2 e P4 apresentam-se com elevada toxicidade e altamente contaminados por metais, sendo P4 contaminado por amônia também. Já o sedimento de P3 apresenta elevada toxicidade, porém uma contaminação moderada por metais; entretanto como a o TIE mostrou, nesse ponto os metais são um dos grupos responsáveis pela toxicidade. Ressalta-se também que em P3 ocorreram os maiores níveis de amônia, composto que também contribuiu para a toxicidade nesse sedimento. Já o sedimento do ponto P5 apresentou-se tóxico, porém com baixa contaminação por metais e amônia, indicando que outros fatores atuam nesta região causando toxicidade; o resultado da TIE sugere que a toxicidade nesses sedimentos pode se dever a contaminantes orgânicos. Nesse sentido, deve-se ressaltar que embora os metais tenham se mostrado um poluente relevante para a Baía de Guanabara, interferindo na qualidade ambiental, outros grupos de xenobióticos tais como compostos orgânicos e amônia também estão presentes na região, e como demonstrado pela TIE, são também responsáveis por parte da toxicidade no sedimento, e representam, portanto, ameaça para qualidade ambiental da região.

Tabela 20: Tabela de decisão com integração qualitativa dos resultados de toxicidade multiespécies, representados pela "Classificação da toxicidade" e fator de enriquecimento total (R) e índice geoquímico (HighQ).

Pontos	Classificação da toxicidade	R	HighQ
P1	muito tóxico	altamente contaminado	alta
P2	muito tóxico	altamente contaminado	alta
P3	muito tóxico	moderadamente contaminado	média a alta
P4	muito tóxico	altamente contaminado	alta
P5	Tóxico	não poluído	média a baixa

O sedimento do ponto P5 foi o menos contaminado, apresentando as concentrações mais baixas de metais tóxicos e amônia, o que salienta a importância das áreas de preservação ambiental. Mas como pode ser visto, mesmo dentro de uma região protegida, os sedimentos desta área ainda apresentaram-se tóxicos,

como observado nos testes com *Nitocra* sp e *T. viscana*. Além disso, o TIE indicou contaminação por orgânicos na região, sendo que a taxa de fecundidade de copépodos foi 47,2% maior quando os orgânicos foram removidos pelo tratamento. Esses resultados podem indicar contaminação proveniente de fontes difusas de poluentes orgânicos que existem no local, que em longo prazo podem superar a carga de derramamentos crônicos. Além disso, houve um derramamento de 1,3 milhões de litros de óleo e combustível ocorrido nessa região em 2000 (BOTELHO, 2003), sendo possível que ainda hoje os sedimentos da região possam estar contaminados com este óleo (em sup-superfície). Segundo o mesmo autor, o tempo da recuperação de ambientes afetados pelo derreamento de óleo varia, dependendo do grau do impacto, das condições físicas do ecossistema, e da natureza da comunidade, de modo que bolsões de óleo podem persistir nestas regiões por mais de 15 anos.

As áreas protegidas marinhas e costeiras foram criadas para se proteger os ecossistemas associados a essas áreas, reduzindo a perda de habitat e mortalidade de organismos ocasionados por pressões antrópicas. Contudo, em ambientes aquáticos não existem bordas definidas, já que o meio líquido é fluido, de modo que populações, comunidades e ecossistemas são todos conectados, o que torna impossível isolar essas regiões de áreas com intensa atividade antrópica, tal como ocorre na Baía de Guanabara. Segundo SALM *et al.*, (2000) para que uma área de preservação ambiental cumpra com seu papel, é necessário que a gestão não ocorra somente dentro dos seus limites, mas também em seu entorno. Nesse sentido, o controle das fontes de poluição que afetam a APA Guapimirim é necessário para que essa UC cumpra seus objetivos de conservação.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que os metais representam um importante poluente para região da Baía de Guanabara. Além dos elevados níveis de contaminação nos sedimentos, os metais também contribuíram para provocar efeitos biológicos negativos, conforme indicado pela TIE e pelas análises integrativas (PCA e análises qualitativas por tabela de decisões). Os sedimentos da Baía de Guanabara apresentam elevados níveis de contaminação de Cr, Cu, Zn e Pb, em especial próximo às áreas portuárias (P1 e P2) e no interior da baía, em sua

porção NW (P4). Cabe aqui ressaltar que a região protegida (P5 - APA de Guapimirim) foi a que apresentou melhor condição ambiental, indicando a importâncias dessas áreas de preservação ambiental. Ainda pode-se concluir que, além dos metais, a Baía de Guanabara sofre com a contaminação por amônia (principalmente em suas regiões mais internas) e contaminantes orgânicos de forma mais geral.

A metodologia escalonada utilizando múltiplas linhas de evidência se mostrou efetiva, de modo que com ela foi possível se compreender e avaliar a problemática da qualidade ambiental da Baía de Guanabara, com ênfase nos metais. Além disso, essa abordagem permitiu identificar, e eventualmente quantificar (como no caso da amônia) outras possíveis substâncias químicas que podem estar ameaçando a qualidade ambiental da Baía de Guanabara, em adição aos metais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D. M. S. (2002). Avaliação da qualidade dos sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil. Ph.D. Teses. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo.
- ABESSA, D., SOUSA, E., RACHID, B., ZARONI, L., GASPARRO, M., HORTELLANI, M., & SARKIS, J. (2014). Using Sets of Geochemical Analyses and Toxicity Tests to Assess the Effects of Sewage Disposal in Santos Bay, Brazil. *Journal of Environment and Human*, 2014(3), 34–47.
- ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008, Qualidade de água - Determinação da toxicidade aguda de sedimentos marinhos ou estuarinos com anfípodos. Rio de Janeiro, 19p.
- ABREU, I. M., CORDEIRO, R. C., SOARES-GOMES, A., ABESSA, D. M. S., MARANHO, L. A., & SANTELLI, R. E. (2016). Ecological risk evaluation of sediment metals in a tropical Eutrophic Bay, Guanabara Bay, Southeast Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*.
- ADAMO, P., ARIENZO, M., IMPERATO, M., NAIMO, D., NARDI, G., STANZIONE, D. (2005). Distribution and partition of heavy metals in surface and sub-surface sediments of Naples city port. *Chemosphere* 61, 800–809.
- AGUIRRE-MARTÍNEZ, G. V., OWUOR, M. A., GARRIDO-PÉREZ, C., SALAMANCA, M. J., DEL VALLS, T. A., & MARTÍN-DÍAZ, M. L. (2015). Are standard tests

- sensitive enough to evaluate effects of human pharmaceuticals in aquatic biota? Facing changes in research approaches when performing risk assessment of drugs. *Chemosphere*, 120, 75–85.
- ALMEIDA, E.A; GOMES, O.F; BAINY, A. C.D; MEDEIROS, M.H.G; DI MASCIO. P. (2004). Lesões oxidativas no DNA de glândulas digestivas de mexilhões Perna perna como indicadores de estresse ambiental. *Biotemas*, 17 (1): 163 - 178.
- AMADOR, E. S. (2013). Baía de Guanabara — Ocupação Histórica e Avaliação Ambiental. Interciência, 1ed, Rio de Janeiro, 510p
- ANDERSON, N., STRADER, R., & DAVIDSON, C. (2003). Airborne reduced nitrogen: Ammonia emissions from agriculture and other sources. *Environment International*, 29(2–3), 277–286.
- ARAUJO, G.S., MOREIRA, L. B., MORAIS, R. D., DAVANSO, M. B., GARCIA, T. F., CRUZ, A. C.F., ABESSA, D. M S. (2013). Ecotoxicological assessment of sediments from an urban marine protected area (Xixová-Japuí State Park, SP, Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* v. 75, p. 62-68.
- BALLATORI, N. (2002). Transport of toxic metals by molecular mimicry. *Environ. Health Perspect.*, 110, 689-694.
- BATLEY, G. E., & SIMPSON, S. L. (2009). Development of guidelines for ammonia in estuarine and marine water systems. *Marine Pollution Bulletin*, 58(10), 1472–1476.
- BEMVENUTI, C. E. (1987). Macrofauna bentônica da região estuarina da Lagoa dos Patos, RS, Brasil, In: Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: Síntese dos Conhecimentos, Cananéia, 1987. Anais. São Paulo, ACIESP, v.1, p. 428-495.
- BERTOLLETI, E. 2011. A Escolha do Anfípodo Bentônico Para Ensaio Ecotoxicológicos com Sedimento Matinho. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.* V. 6: 1-7.
- BISINOTI, M. C., & JARDIM, W. F. (2004). O comportamento do metilmercúrio (METILHg) no ambiente. *Química Nova*, 27(4), 593–600.
- BOTELHO, A. L. M. (2003). ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO POR ÓLEO NA APA DE GUAPIMIRIM – RJ. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Fluminense,

- BOULAMANTI, A., & MOYA, J. A. (2016). Production costs of the chemical industry in the EU and other countries: Ammonia, methanol and light olefins. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. In press
- BRASIL. Constituição (1988). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado; 1988.
- BURTON, G. A., & JOHNSTON, E. L. (2010). Assessing contaminated sediments in the context of multiple stressors. *Environmental Toxicology and Chemistry / SETAC*, 29(12), 2625–43.
- BURTON, G. A., BATLEY, G. E., CHAPMAN, P. M., FORBES, V. E., SMITH, E. P., REYNOLDSON, T., ... DWYER, R. L. (2002). A Weight-of-Evidence Framework for Assessing Sediment (Or Other) Contamination: Improving Certainty in the Decision-Making Process. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 8(7), 1675–1696.
- BURTON, G. A., BATLEY, G. E., CHAPMAN, P. M., FORBES, V. E., SMITH, E. P., REYNOLDSON, T., SCHLEKAT, C. E., BESTEN, P. J., BAILER, A. J., GREENA. A. S. (2002). weight-of-evidence framework for assessing sediment (or other) contamination: improving certainty in the decision-making process *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 8, 1675–1696
- BURUAEM, L. M., HORTELLANI, M. A., SARKIS, J. E., COSTA-LOTUFO, L. V., & ABESSA, D. M. S. (2012). Contamination of port zone sediments by metals from Large Marine Ecosystems of Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 64(3), 479–488.
- CAMPOS, B. G., ABESSA, D. M. S (2013). Utilização da Técnica de Avaliação e Identificação da Toxicidade em sedimento estuarino em uma área de proteção ambiental do litoral Sul do estado de São Paulo. Monografia, UNESP.
- CAMPOS, B. G., CRUZ, A. C. F., BURUAEM, L. M., RODRIGUES, A. P. C., MACHADO, W. T. V, & ABESSA, D. M. S. (2016). Using a tiered approach based on ecotoxicological techniques to assess the ecological risks of contamination in a subtropical estuarine protected area. *Science of the Total Environment*, 544, 564–573.
- CAPITOLI, R. R, BEMVENUTI, C. E., GIANUCA, N. M. (1978). Estudos de ecologia bentônica da região estuarina da Lagoa dos Patos. I. As comunidades bentônicas. *Atlantica*, Rio Grande, v.3, p.5-22.

- CCME. (2002). Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: summary tables. Winnipeg, Canada: Canadian Council of Ministers of the Environment. Disponível em: <http://st-ts.ccme.ca/en/index.html>.
- CDRJ (COMPANIA DE DOCAS DO RIO DE JANEIRO) 2016. Acessado em Dezembro 2016. Disponível em: http://www.portosrio.gov.br/downloads/files/estatistica/mapa_resumo_agosto_2016_-_porto_do_rio_de_janeiro.pdf
- CEDAE – Companhia Estadual de Águas e Esgotos (2014). *Relatório da Administração do Exercício de 2011*. Rio de Janeiro. Acessado em Agosto de 2016. Disponível em: http://ri.cedae.com.br/DemonstracoesFinanceiras_2014.pdf
- CHAKRABORTY, P., CHAKRABORTY, S., VUDAMALA, K., SARKAR, A., & NATH, B. N. (2015). Partitioning of metals in different binding phases of tropical estuarine sediments: importance of metal chemistry. *Environmental Science and Pollution Research*, 3450–3462.
- CHANDRAN, R., SIVAKUMAR, A A, MOHANDASS, S., & ARUCHAMI, M. (2005). Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology* : CBP, 140(3–4), 422–426.
- CHAPMAN, P. M., & MANN, G. S. (1999). Sediment quality values (SQVs) and ecological risk assessment (ERA). *Marine Pollution Bulletin*, 38(5), 339–344.
- CHAPMAN, P. M., & WANG, F. (2001). Annual Review ASSESSING SEDIMENT CONTAMINATION IN ESTUARIES. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 3–22.
- CHAPMAN, P. M., McDONALD, B. G., LAWRENCE, G. S. (2002a). Weight of evidence issues and frameworks or sediment quality (and other) assessments. *Human Ecological Risk Assessment*, 1489- 1515
- CHAPMAN, P. M., HO, K. T., MUNNS, W. R., SOLOMON, K., & WEINSTEIN, M. P. (2002b). Issues in sediment toxicity and ecological risk assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 44(4), 271–278
- CHAPMAN, P.M., HOLLERT, H., (2006). Should the sediment quality triad become a tetrad, a pentad, or possibly even a hexad? *J. Soils Sediments* 6, 4–8.

- CHOUERI, R. B., CESAR, A., ABESSA, D. M. S., TORRES, R. J., MORAIS, R. D., RIBA, I., ... DELVALLS, T. A. (2009). Development of site-specific sediment quality guidelines for North and South Atlantic littoral zones: Comparison against national and international sediment quality benchmarks. *Journal of Hazardous Materials*, 170(1), 320–331.
- CHRISTENSEN, J. H., TOMASI, G., SCOFIELD, A. D. L., MENICONI, M. D. F. G. (2010). A novel approach for characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution patterns in sediments from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Pollution*, 158(10), 3290–3297.
- CLARK, M.W., MCCONCHIE, D.M., LEWIS, D.W., SAENGER, P. (1998). Redox stratification and heavy metal partitioning in Avicennia- dominated mangrove sediments: a geochemical model. *Chemical Geology* 149, 147–171.
- CLARKSON, T. W. (1993). Molecular and ionic mimicry of toxic metals. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 33: 545-571
- COELHO V. (2007). Baía de Guanabara: Uma história de agressão Ambiental. Rio de Janeiro. Casa da palavra, 278p.
- COSTA, C.R., OLIVI, P., BOTTA, C.M.R., E ESPINDOLA, E. L. G. (2008). A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, 31(7): 1820-1830.
- CRUZ, A. C. F., DAVANSO, M. B., ARAUJO, G. F., BURUAEM, L. M., SANTAELLA, S., MORAIS, R. D., ABESSA, D. M. S. (2014) . Cumulative influences of a small city and former mining activities on the sediment quality of a subtropical estuarine protected area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 7035-7046.
- CYCLE, W., BARCELO, D., ANALYTICAL, C., EPA, U. S., AVENUE, E. H., VEGAS, L., DAUGHTON , C . G. (2007). Pharmaceuticals in the Environment : Sources and Their Management, Chapter 1 , 1-58 , In Analysis , Fate and Removal of Pharmaceuticals. 50, 1–43.
- DAZY, M., MASFARAUD, J.-F., FÉRARD, J.F. (2009). Induction of oxidative stress biomarkers associated with heavy metal stress in *Fontinalis antipyretica* Hedw. *Chemosphere*, 75(3), 297–302.

- DI GIULIO, R. T., MEYER, J. N. (2008). Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress. In: R. T. DI GIULIO, D. E. HINTON (Eds). The toxicology of fishes. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, p. 273-324.
- DONN, T E. JR., ELS, S. F. (1990). Burrowing times of *Donax serra* from the South and West coasts of South Afrlca. *Veliger* 33: 355-358
- ERCAL, B. S. P., HANDE GURER-ORHAN, B. S. P., NUKHET AYKIN-BURNS, B. S. P. (2001). Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Me-tal induced Oxidative Damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 529–539.
- FENILI, H. L. (2012). Qualidade do sedimento do canal de navegação do Porto de Santos (Santos, SP) após dragagem de aprofundamento: ensaios ecotoxicológicos com *Tiburonella viscana* e *Nitocra* sp. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Escola de Ciências da Engenharia Ambiental São Carlos, 2012.
- FIGUEIREDO, A.G., TOLEDO, M.B., CORDEIRO, R.C., GOGOY, J.M.O., SILVA, F.T., VASCONCELOS, S.C., SANTOS, R.A., (2014). Linked variations in sediment accumulation rates and sea-level in Guanabara Bay, Brazil, over the last 6000 years. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 415, 83–90.
- FOLK, R. L.; WARD, W. C. (1957). Brazos river bar: a study of significant of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*, 27: 3-26.
- GHERARDI-GOLDSTEIN, E., BERTOLETTI, E., ZAGATTO, P. A., ARAÚJO, R. P. A., E RAMOS, M. L. L. C. (1990). Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo, CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental). 15p
- GODOY, J. M., MOREIRA, I., BRAGANÇA, M. J., WANDERLEY, C., & MENDES, L. B. (1997). A study of Guanabara Bay sedimentation rates. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 227(1-2), 157–160.
- GROS, M., RODRIGUEZ-MOZAZ, S., & BARCELO, D. (2012). Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem . *J Chromatogr A*, 1248, 104–121.

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. (1999). Free radicals in biology and medicine. London: Oxford University Press, 936 pp.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. (1977). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, 12.
- HENDERSON, I. K., & SAARI-NORDHAUS, R. (1992). Analysis of commercial explosives by single-column ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 602(1–2), 149–154.
- HIROTA, J. & SZYPER, J. P. (1975). Separation of total particulate carbon into inorganic and organic components. *Limnol, Oceanogr*, 20: 896-900.
- JABLONSKI, S., AZEVEDO, A. F., MOREIRA, L. H. A. (2006). Fisheries and conflicts in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 49, 79–91.
- JÄRUP, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167–182.
- KEHRIG, H. A., MALM, O. (2011). Bioconcentração e Biomagnificação de Metilmercúrio na Baía De Guanabara, Rio De Janeiro. *Quim. Nova*, 34(3), 377–384.
- LAVRADAS, R. T., ROCHA, R. C. C., BORDON, I. C. A. C., SAINT'PIERRE, T. D., GODOY, J. M., & HAUSER-DAVIS, R. A. (2016). Differential metallothionein, reduced glutathione and metal levels in *Perna perna* mussels in two environmentally impacted tropical bays in southeastern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 75–84.
- LIN, Q., LIU, E., ZHANG, E., LI, K., & SHEN, J. (2016). Spatial distribution, contamination and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments of Erhai Lake, a large eutrophic plateau lake in southwest China. *Catena*, 145, 193–203.
- LOTUFO, G. R. & ABESSA, D. M. S. (2002). Testes de toxicidade com sedimentos total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos, In: Nascimento, I,A.; Sousa, E,C,P,M, & Nipper, M,G, Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil, Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo,51-162p.

- LUCZAK, C.; JANQUIN, M. A. & KUPKA, A. (1997). Simple standard procedures for the routine determination of organic matter in marine sediment. *Hydrobiologia*, 345: 87-94.
- MACHADO, W.; SILVA-FILHO, E. V, OLIVEIRA, R. R., LACERDA, L. D. (2002). Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 44(11), 1277–80
- MARANHO, L. A, ANDRÉ, C., DELVALLS, T. A, GAGNÉ, F., MARTÍN-DÍAZ, M. L. (2015). In situ evaluation of wastewater discharges and the bioavailability of contaminants to marine biota. *The Science of the Total Environment*, 538, 876–87.
- MARANHO, L. A. ; ABREU, I. M. ; SANTELLI, E. R. ; CORDEIRO, R. C. ; SOARES-GOMES, A. ; MOREIRA, L. B. ; MORAIS, R. D. ; ABESSA, D. M. S. (2010). Acute chronic toxicity of sediment samples from Guanabara Bay (RJ) in the rainy period. *Brazilian Journal of Oceanography*. v. 58, p. 77-85.
- MARANHO, L. A. ; ABREU, I. M. ; SANTELLI, E. R. ; CORDEIRO, R. C. ; SOARES-GOMES, A. ; MOREIRA, L. B. ; MORAIS, R. D. ; ABESSA, D. M. S. 2009. Sediment toxicity assessment of Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Coastal Research*, v. 56, p. 851-855.
- MARCONATO, L.A. 2006. Avaliação da sensibilidade do copépodo *Nitocra* sp quanto à granulometria do sedimento e à alimentação. Trabalho de Conclusão do Curso. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, São Paulo, SP.
- MATOZZO, V., BINELLI, A., PAROLINI, M., PREVIATO, M., MASIERO, L., FINOS, L., MARIN, M. G. (2012). Biomarker responses in the clam *Ruditapes philippinarum* and contamination levels in sediments from seaward and landward sites in the Lagoon of Venice. *Ecological Indicators*, 19, 191–205.
- McLUSKY, D.S.; ELLIOTT, M. (2004). The estuarine ecosystem: ecology, threats, and management, 3 ed., Oxford University Press , 214 p
- MELO, S. L. R. & ABESSA, D. M. S. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos, In: Nascimento, I, A.; Sousa, E, C, P, M, & Nipper, M, G, (eds.), Métodos Em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações No Brasil. Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, SP, 123-178p.
- MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; KJERFVE, B. (2002). Princípios de oceanografia física de estuários, EDUSP, São Paulo, 414 p.

- MONTEIRO, F. F., CORDEIRO, R. C., SANTELLI, R. E., MACHADO, W., EVANGELISTA, H., VILLAR, L. S., VIANA, L. C. A., BIDONE, E. D., (2012). Sedimentary geochemical record of historical anthropogenic activities affecting Guanabara Bay (Brazil) environmental quality. *Environ. Earth Sci.* 65, 1661–1669.
- NEMR, L. A., EL-SAID, G. F., KHALED, A., & RAGAB, S. (2016). Distribution and ecological risk assessment of some heavy metals in coastal surface sediments along the Red Sea, Egypt. *International Journal of Sediment Research*, 31(2), 164–172.
- NETO, B. J. A., GINGELE, F. X., LEIPE, T., & BREHME, I. (2006). Spatial distribution of heavy metals in surficial sediments from Guanabara Bay: Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Geology*, 49(7), 1051–1063.
- NETO, B. J. A.; CRAPEZ, M.; MCALISTER, J. J.; GUTTERRES VILELA, C. (2005). Concentration and Bioavailability of Heavy Metals in Sediments from Niterói Harbour (Guanabara Bay/S.E. Brazil). *Journal of Coastal Research*, 214, 811–817.
- NIPPER, M. G.; GREENSTEIN, D. J.; BAY, S. M. (1989). Short and long-term sediment toxicity test methods with the amphipod *Grandidierella japonica*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 1191-1200.
- PEKEY, H., KARAKAŞ, D., AYBERK, S., TOLUN, L., & BAKOĞLU, M. (2004). Ecological risk assessment using trace elements from surface sediments of İzmit Bay (Northeastern Marmara Sea) Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 48(9–10), 946–953.
- PELLETIER, M. C., HO, K. T., CANTWELL, M., KUHN-HINES, A, JAYARAMAN, S., & BURGESS, R. M. (2001). Use of *Ulva lactuca* to identify ammonia toxicity in marine and estuarine sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(12), 2852–2859.
- PEREIRA, E., BAPTISTA-NETO, J. A, SMITH, B. J., & MCALLISTER, J. J. (2007). The contribution of heavy metal pollution derived from highway runoff to Guanabara Bay sediments--Rio de Janeiro/Brazil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 79, 739–750.
- PERIN G., FABRIS R., MANENTE, S., REBELLO, A., WAGENER, C., HAMACHER, S. S. (1997). A five-year study on the heavy-metal pollution of Guanabara Bay

- sediments (Rio de Janeiro, Brazil) and evaluation of the metal bioavailability by means of geochemical speciation. *Water Research*, 32(12), 3017–3028.
- PERMENTER, M. G., LEWIS, J. A., JACKSON, D. A. (2011). Exposure to nickel, chromium, or cadmium causes distinct changes in the gene expression patterns of a rat liver derived cell line. *PloS One*, 6(11), e27730.
- RAINBOW, P. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120(3), 497–507.
- RAINBOW, P. S. (2007). Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33(4), 576–582.
- RAND, G.M., E PETROCELLI, S. R. (1985). Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Washington, D.C.: Hemisphere.
- REBELLO, A. L., PONCIANO, C. R., MELGES, L. H., (1988). Avaliação da produtividade primária e da disponibilidade de nutrientes na Baía de Guanabara. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 60, 419–430.
- REZAEI, K., SAION, E. B., WOOD, A. K., ABDI, M. R. (2010). Rare earth elements determination and distribution patterns in surface marine sediments of the South China Sea by INAA, Malaysia. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 283(3), 823–829.
- RIBEIRO, A.P., FIGUEIREDO, A.M.G., SANTOS, J.O., DANTAS, E., COTRIM, M.E.B., FIGUEIRA, R.C.L., SILVA FILHO, E.V., WASSERMAN, J.C., (2013). Combined SEM/AVS and attenuation of concentration models for the assessment of bioavailability and mobility of metals in sediments of Sepetiba Bay (SE Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* 68, 55–63.
- RUIZ, J. M., BRYAN, G. W., & GIBBS, P. E. (1994). Chronic toxicity of water tributyltin (TBT) and copper to spat of the bivalve *Scrobicularia plana*: ecological implications. *Marine Ecology Progress Series*, 113(Tebble 1966), 105–117.
- SALM, R.V., CLARK, J., SIIRILA, E., (2000). Marine and Coastal Protected Areas: A Guide for Planners and Managers. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Washington DC (370 pp.).
- SCRIMSHAW, M. D., DELVALLS, T. A., & CHAPMAN, P. M. (2007). Sediment Quality Guidelines and Weight of Evidence Assessments. *Sustainable*

Management of Sediment Resources: Sediment Quality and Impact Assessment of Pollutants, 295–309.

- SHAIKH, Z. A, VU, T. T., & ZAMAN, K. (1999). Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and protection by antioxidants. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 154(3): 256–263.
- SHIN, P. K. S., NG, A. W. M., & CHEUNG, R. Y. H. (2002). Burrowing responses of the short-neck clam *Ruditapes philippinarum* to sediment contaminants. *Marine Pollution Bulletin*, 45(1-12), 133–139.
- SILVA, T. F. DA, AZEVEDO, D. DE A., & NETO, F. R. DE A. (2007). Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments and, 18(3), 628–637.
- SINGH, N., & TURNER, A. (2009). Trace metals in antifouling paint particles and their heterogeneous contamination of coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 58(4), 559–564.
- SOARES, D. L. (2010). OS IMPACTOS AMBIENTAIS NO GEOSISTEMA BAÍA DE GUANABARA. In: Anais XVI Incontro nacional dos Geógrafos. Porto Alegre.
- SOARES-GOMES, A., DA GAMA, B. A. P., BAPTISTA NETO, J. A., FREIRE, D. G., CORDEIRO, R. C., MACHADO, W., ... PEREIRA, R. C. (2016). An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Regional Studies in Marine Science.*, 9: 319-330.
- SOUZA, I. S. DE, ARAUJO, G. S. DE, CRUZ, A. C. F., FONSECA, T. G., CAMARGO, J. B. D. A. DE, MEDEIROS, G. F., & ABESSA, D. M. DE S. (2015). Using an integrated approach to assess the sediment quality of an estuary from the semi-arid coast of Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 104(1–2), 70–82.
- SUTHERLAND, R. A. (2000). Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii. *Environmental Geology*, 39: 611–627.
- SWARTZ, R. C., DEBEN, W. A., JONES, J. K. P., LAMBERSON, J. O., COLE, F. A. (1985). Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity. Symposium on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, Philadelphia, ASTM, 7: 284-307.
- TABACHNICK, B. G., FIDELL, L. S., (1989). Using multivariate statistics. second ed. New York, Harper Collins College (746 pp.).

- TAM, N. F., & WONG, Y. S. (2000). Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 110(2), 195–205.
- TESSIER, A., & CAMPBELL, P. G. C. (1987). Partitioning of trace metals in sediments: Relationships with bioavailability. *Hydrobiologia*, 149(1), 43–52.
- USEPA. United States Environmental Protection Agency, (2007). Sediment Toxicity Identification Evaluation (TIE) Phases I, II, and III. Office of Research and Development, Washington. EPA/600/R-07/080
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. (1992). Framework for Ecological Risk Assessment. Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA/630/R-92/001).
- USEPA. United States Environmental Protection Agency. (1998). Guidelines for Ecological Risk Assessment. Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA/630/R-95/002F).
- VILELA, C. G., SANJINÉS, A. E. S., GHISELLI JR, R. O., FILHO, J. G. M., NETO, J. A. B., & BARBOSA, C. F. (2003). Search for Bioindicators of Pollution in the Guanabara Bay: Integrations of Ecologic Patterns. *Anuário Do Instituto de Geociências - UFRJ*, 26, 25–35.
- WAGENER, A. L. R., (1995). Burial or organic carbon in estuarine zones- estimates for Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Quím. Nova* 18, 534–535.
- WANG, W. X., & FISHER, N. S. (1999). Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates. *Science of the Total Environment*, 237–238, 459–472.
- WANG, W. X., STUPAKOFF, I., FISHER, N. S. (1999). Bioavailability of dissolved and sediment-bound metals to a marine deposit-feeding polychaete. *Marine Ecology Progress Series*, 178, 281–293.
- WEATHERBURN, M. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39(8), 971–974.
- ZAMBONI, A. J. & COSTA, J. B. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando Tanaidáceos, In: Nascimento, I, A.,; Sousa, E, C, P, M, & Nipper, M, G, (eds.), Métodos Em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações No Brasil. Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, SP, 123-178p.
- ZAR, J. H. 1996. Biostatistical analysis, 3rd, Ed, Nova Jersey, Prentice-Hall, 662p.

ZHOU, B.; GITSCHIER, J. (1997). hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 94, p.7481-7486.